



Instituto Superior de Agronomia
Universidade Técnica de Lisboa



COCHONILHAS EM VINHA. POTENCIALIDADES DE INTERACÇÃO COM OS NÍVEIS DE FERTILIZAÇÃO DA VINHA E TIPOS DE PODA.

Marta Filhó Maia

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em

Viticultura e Enologia

Orientador: Professor Doutor António Maria Marques Mexia

Co-orientadora: Doutora Elsa Borges da Silva

Júri:

Presidente: Doutor Jorge Manuel Rodrigues Ricardo da Silva, Professor Catedrático do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa.

Vogais: Doutor António Maria Marques Mexia Professor Catedrático do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

Doutora Maria Teresa Ferreira Ramos Nabais de Oliveira Rebelo, Professora Auxiliar da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa;

Doutor José Carlos Franco Santos Silva, Professor Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

Doutora Elsa Maria Borges da Silva.

Lisboa, 2013

AGRADECIMENTOS

Agradecer é uma forma de retribuir e fazê-lo é não só uma obrigação de carácter deontológico, mas uma forma de devolver o carinho que recebi.

O meu contributo neste estudo é resultado da confluência de factores de ordem científica, mas também de factores de aspectos intangíveis, nomeadamente o afecto com que fui presenteada, nas mais diversas formas, pelo Professor António Mexia, que orientou o meu trabalho, que muito me ensinou, apoiou, e, sobretudo, me ofereceu generosamente a sua energia para me motivar nos momentos mais difíceis.

Da mesma forma, a Doutora Elsa Silva ajudou-me, com a sua disponibilidade e simpatia, a abrir novas portas e a espicaçar em mim o despertar do espírito crítico e atento para as questões que foram emergindo ao longo deste trajecto.

Ao Professor José Carlos Franco pela identificação de algumas espécies, pela simpatia, algumas elucidações e pela motivação e preocupação.

Em campo, no terreno do jogo, os Engenheiros Amândio Cruz e Manuel Botelho foram determinantes para a sustentabilidade da minha actuação em campo e fundamentais no registo de dados, assim como na compilação de dados e resultados.

Estendo este agradecimento à Engenheira Vera Zina que tudo fez para me ajudar na preparação de espécies para identificação e com a mesma simpatia e entusiasmo, me cedeu fotografias e informações imprescindíveis.

Aos responsáveis pela Quinta do Gradil e pela Quinta do Côro devo também uma especial atenção pela forma como fui acolhida, disponibilizando-me todas as condições para realizar os ensaios. A todos aqueles com quem nestas quintas pude contactar, agradeço a gentileza e compreensão. No correr da pena, quero realçar a pessoa do Engenheiro Bento Rogado pelas suas afáveis respostas às questões que, como estudante, lhe fui colocando.

À Professora Elisabete Figueiredo pelo incentivo e preocupação, devo a minha integração e adaptação para me sentir como uma nova aquisição no laboratório.

De maneira nenhuma posso esquecer a Engenheira Joana Martins que me ajudou a fechar o arco do conhecimento, orientando-me na pesquisa atenta e fundamentada, e a colaboração amiga da D. Teresa Pereira que contribuiu para que não encontrasse obstáculos desnecessários.

Por fim, e sempre, uma lembrança para a minha família e para os meus amigos que celebraram comigo os sucessos, que me obrigaram a fugir do desânimo e que me aconchegaram no percurso que percorri para chegar a esta meta.

RESUMO

Devido ao tipo de estragos associados às cochonilhas, em geral, este grupo de insectos fitófagos tem sido alvo de estudo em todo o mundo. No entanto, são poucos os estudos que relacionam os efeitos desta praga associados às respostas anuais de produtividade e vigor da videira.

Os objectivos são: i) caracterização do complexo de cochonilhas associadas a vinha na região centro de Portugal; ii) avaliação da interacção entre diferentes tipos de poda (mecânica e manual) e de fertilização (estrume de bovino, resíduos sólidos urbanos compostados, lamas de estação de tratamentos de águas residuais e biocarvão) e a intensidade populacional das diferentes espécies de cochonilhas; iii) identificação de parasitóides associados às espécies de cochonilhas presentes nas vinhas em estudo.

Este estudo foi realizado em vinha de Março a Outubro de 2012, nos municípios do Cadaval (Syrah e Aragonez) e Sardoal (Syrah) (Portugal). Em laboratório, o ensaio decorreu no mesmo período, em videiras envasadas das mesmas castas presentes nas vinhas.

As espécies de cochonilhas em estudo compreendem duas espécies, *Parthenolecanium corni* e *Planococcus ficus*. Verificou-se a ocorrência de parasitóides, *Coccophagus lycimnia* e *Metaphycus dispar* associados a *P. corni* e *Leptomastidae abnormis* e *Anagyrus* sp. near *pseudococci* associados a *P. ficus*.

Palavras-chave: *Parthenolecanium*, *Planococcus*, biologia, morfologia, parasitóides, poda e fertilização.

ABSTRACT

Due to the type of damage associated with scale insects in vineyards, these phytophagous insects have been studied worldwide. However, few studies relate the effects of these pests with vineyards' productivity and vigour.

The main goals of this study are: i) characterization of the vineyard scale insects complex (Coccidae and Pseudococcidae) in central Portugal; ii) evaluation of interaction among different pruning systems (hedge pruning and manual pruning), fertilization (bovine manure, solid manure compound from municipality, sludge waste from water treatment station, vegetal coal) and populations intensity of different scale insects species; iii) natural occurring parasitoids' identification.

The study was carried out in Portuguese vineyards, in Cadaval (Syrah and Aragonez varieties) and Sardoal (Syrah variety) municipalities, from March to October 2012. In the laboratory, biology and morphology observations and measurements took place during the same period, in potted vine plants from the same varieties used in the field work.

The scale insects species in this essay belong to the *Parthenolecanium corni* and *Planococcus ficus* species. The occurrence of parasitoids associated with *P. corni* was identified as *Coccophagus lycimnia* e *Metaphycus dispar*, and the parasitoids' associated with *P. ficus* was identified as *Leptomastidae abnormis* e *Anagyrus* sp. near *pseudococci*.

Key words: *Parthenolecanium*, *Planococcus*, biology, morphology, parasitoids, pruning and fertilization.

EXTENDED ABSTRACT

Due to the type of damage associated with scale insects in vineyards, these phytophagous insects have been studied worldwide. However, few studies relate the effects of these pests with vineyards' productivity and vigour. Coutinho referred, in 1945, the existence of four types of mealybugs in the vineyards of Portugal, the mealybug, *Planococcus citri* (Hemiptera: Pseudococcidae), and soft scale insects, *Pulvinaria vitis* (Hemiptera: Coccidae), *Parthenolecanium corni* (Bouché, 1844) (Hemiptera: Coccidae) and *Parthenolecanium persicae* (Fabricius, 1776) (Hemiptera: Coccidae), empathizing the mealybugs.

The main goals of this study are: i) characterization of the vineyard scale insects complex (Coccidae and Pseudococcidae) in central Portugal; ii) evaluation of interaction among different pruning systems (hedge pruning and manual pruning), fertilization (bovine manure, solid manure compound from municipality, sludge waste from water treatment station, vegetal coal) and populations intensity of different scale insects species; iii) natural occurring parasitoids' identification.

The study was carried out in Portuguese vineyards, in Cadaval (Syrah and Aragonez varieties) and Sardoal (Syrah variety) municipalities, from March to October 2012. In each of the two parcels submitted to the different fertilizer e pruning system, 60 vine plants were observed, randomly, distributed by the replication of the five systems under study (i.e., 3 vines/replication, that is, 15 vines/replication), observing the presence of mealybugs (e.g., females + eggs, nymphs, adult females) for each species of mealybug (i. e., mealybugs, soft scale insects), or any of its traces (e.g., honeydew, ants, dead females). In the laboratory, biology and morphology observations and measurements took place during the same period, in potted vine plants from the same varieties used in the field work. To make possible to follow the life cycle and morphology of the soft scale insects, was initiated a similar process to the one described by Afonso *et al.* (2006). To the successful fixation of the nymphs in the potted vineyards, each oviposition female was transferred, individually, stuck in cotton (humidified in water) with a help of a pin, in turn of a basal shoot.

The scale insects species in this essay belong to the *Planococcus* and *Parthenolecanium* genera. The species of mealybugs were identified as *Planococcus ficus* (Signoret, 1875). The species of soft scale insects were identified as *Parthenolecanium corni* (Bouché, 1844).

The occurrence of parasitoids associated with both genera was registered and identified. *Coccophagus lycimnia* (Walker, 1839) (Hymenoptera: Aphelinidae) e *Metaphycus dispar* (Mercet, 1925) (Hymenoptera: Encyrtidae) were identified as parasitoids associated with *P. corni*. During the

research of parasitoids associated to *Planococcus ficus*, were identified the species *Leptomastidea abnormis* (Girault, 1915) and *Anagyrus* sp near *pseudococci* (Girault, 1915).

The analyses of the pruning system effect on the average number of scale individuals (\pm standart error), revealed significant differences between the vine pruning systems; the manual pruning presented lower values comparative with the hedge pruning ($F_{1,1200}=70,21$; $p < 0,001$).

Key words: *Parthenolecanium*, *Planococcus*, biology, morphology, parasitoids, pruning and fertilization.

ÍNDICE

1.	INTRODUÇÃO	1
2.	CARACTERIZAÇÃO DAS COCHONILHAS NA CULTURA DA VINHA	4
2.1.	Importância das cochonilhas em vinha	4
2.2.	Posição sistemática e sinonímia	5
2.3.	Nomes Vulgares.....	8
2.4.	Distribuição Geográfica	8
2.5.	Morfologia	9
2.6.	Biologia	12
2.7.	Ciclo de vida.....	13
3.	CARACTERIZAÇÃO DO SISTEMA COCHONILHA – VINHA	16
3.1.	Relações tróficas.....	16
3.1.1.	Mediação pela melada.....	16
3.2.1.	Insecto – Inimigos naturais.....	16
3.3.	Formigas	18
3.4.	Estragos e prejuízos associados a cochonilhas.....	19
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	22
4.2.	Identificação de espécies.....	22
4.2.1.	Preparações microscópicas das cochonilhas	22
4.2.2.	Identificação sistemática	22
4.3.	Ensaio de laboratório	23
4.4.	Ensaio de campo	24
4.4.1.	Caracterização das parcelas.....	24
4.4.2.	Dispositivo experimental	25
4.5.	Análise estatística	26
5.	RESULTADOS.....	28
5.2.	Identificação de espécies.....	28
5.3.	Ensaio de laboratório.....	30
5.4.	Ensaio de campo.....	37
5.4.1.	Ensaio de poda.....	37
5.4.2.	Ensaio poda vs fertilização.....	41
6.	DISCUSSÃO	44
7.	CONCLUSÕES.....	49

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
ANEXOS	I
Anexo I - Protocolo de preparação de coccídeos para observação microscópica, adaptado de Ben-Dov & Hodgson (1997).	II
Anexo II - Protocolo de preparação de pseudococcídeos para observação microscópica, adaptado de Williams & Watson (1990).....	III
Anexo III – Delineamento experimental das parcelas do ensaio FERTILPODA, parcela 5 da Quinta do Gradil (Cadaval) e Quinta do Côro (Sardoal).	IV
Anexo IV – Delineamento experimental das parcelas do ensaio exclusivamente de poda, na Quinta do Gradil (Cadaval).	V
Anexo V – Tratamentos fitossanitários realizados nas parcelas das vinhas em estudo (Quinta do Gradil, Cadaval, Quinta do Côro, Sardoal).....	VI
Anexo VI - Registos de valores médios de temperaturas, máxima e mínima, e precipitações, relativos aos meses de observação em campo (Março a Outubro, 2012) referentes à Quinta do Gradil.	VII
Fonte: Quinta do Gradil, Estação meteorológica do Cadaval.	VII
Anexo VII - Registos de valores médios de temperaturas, máxima e mínima, e precipitações, relativos aos meses de observação em campo (Março a Outubro, 2012) referentes à Quinta do Côro.VIII	
Anexo VIII - Folha de registo de intensidade de infestação de cochonilha-lapa sujeita a modalidade de poda em vinha (2012).	IX

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 1. Principais características das parcelas de vinha no estudo de avaliação dos efeitos de poda e fertilização na intensidade populacional de espécies de cochonilhas associadas.....	24
Quadro 2. Datas de observação e registos realizados nos ensaios do estudo de avaliação dos efeitos de poda e fertilização na intensidade populacional de espécies de cochonilhas associadas, na Quinta do Gradil (Cadaval) e na Quinta do Côro (Sardoal).	26
Quadro 3. Dimensões médias de largura e comprimento (mm) (\pm erro padrão) por instar de desenvolvimento de <i>Parthenolecanium corni</i> (Bouché) (Hemiptera: Coccidae), em videiras envasadas de Aragonez e Syrah.....	31
Quadro 4. Dimensões médias de largura e comprimento (mm) (\pm erro padrão) por instar de desenvolvimento de <i>Parthenolecanium corni</i> (Bouché) (Hemiptera: Coccidae) por Brittin (1939) e por Hodgson (1994) e de <i>Parthenolecanium persicae</i> (F.) (Hemiptera: Coccidae) por Santos (1985).....	31
Quadro 5. Registo fotográfico do ciclo de vida de cochonilha-lapa, <i>Parthenolecanium corni</i> (Bouché) (Hemiptera: Coccidae), em videiras envasadas (<i>Vitis vinifera</i> L.), Syrah e Aragonez, registado em laboratório no período de Junho a Setembro de 2012, a partir de posturas obtidas na Quinta do Gradil (Cadaval) (originais do autor).....	33
Quadro 6. Registo Fotográfico do ciclo de vida de cochonilha-lapa, <i>Parthenolecanium corni</i> (Bouché) (Hemiptera: Coccidae), em videiras envasadas (<i>Vitis vinifera</i> L.), Syrah e Aragonez, registado em laboratório no período de Junho a Setembro de 2012, a partir de posturas obtidas na Quinta do Côro (Sardoal) (originais do autor).....	34

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Exemplo de cacho (da casta Syrah) coberto de fumagina resultante do depósito de melada por <i>Parthenolecanium corni</i> (Bouché) (Hemiptera: Coccidae) (Original de Manuel Botelho).....	20
Figura 2. Método de colocação de fêmea de cochonilhas-lapa, <i>Parthenolecanium corni</i> (Bouché) (Hemiptera: Coccidae) com postura em <i>Vitis vinifera</i> L. (Original do autor).....	23
Figura 3. Parcelas do ensaio no estudo de avaliação dos efeitos de poda e fertilização na intensidade populacional de espécies de cochonilhas associadas. A) Quinta do Côro (Sardoal); B) Quinta do Gradil (Cadaval) (originais de Manuel Botelho).	25
Figura 4. Fêmeas de cochonilhas-algodão e cochonilhas-lapa (A e B, respectivamente), recolhidas na Quinta do Gradil (Cadaval) e na Quinta do Côro (Sardoal): A) <i>Planococcus ficus</i> ; B) <i>Parthenolecanium corni</i> (originais do autor).	28
Figura 5. Parasitóides associados a <i>Parthenolecanium corni</i> recolhidos na Quinta do Gradil (Cadaval) A) <i>Coccophagus lycimnia</i> (original de Vera Zina); B) <i>Metaphycus dispar</i> (original do autor).	28
Figura 6. A) Fêmea morta de <i>Parthenolecanium corni</i> parasitada, em vinha, na Quinta do Gradil (Cadaval). (original do autor); B) Fêmea de <i>Planococcus ficus</i> parasitada por <i>Anagyrus</i> sp. near <i>pseudococci</i> (original de Elsa Silva).	29
Figura 7. Imagem de parasitóides associados a <i>Planococcus ficus</i> : A) fêmea de <i>Leptomastix abnormis</i> ; B) macho de <i>Leptomastix abnormis</i> ; C) <i>Anagyrus</i> sp. near <i>pseudococci</i> (originais de Elsa Silva). ...	29
Figura 8. Formiga Argentina, <i>Linepithema humile</i> associada a <i>Parthenolecanium corni</i> , em vinha, Quinta do Gradil (Cadaval) (original de Vera Zina).....	30

Figura 9. Fases de desenvolvimento das cochonilhas-lapa. Fêmeas de <i>Parthenolecanium corni</i> : A) escudo de fêmea em postura; B) interior de fêmea em postura; C) ninfa de primeiro instar ou “crawler”; D) Ninfa de segundo instar; E) ninfa de terceiro instar; F) jovem fêmea adulta; em videira envasada Syrah e Aragonez, no período de Junho a Outubro (originais do autor).	37
Figura 10. Número total de indivíduos de <i>Parthenolecanium corni</i> , por estado de desenvolvimento (N1=ninfa de 1º instar, N2=ninfa de 2º instar e N3=ninfa de 3º instar) em cada modalidade de poda (manual e mecânica), na parcela de ensaio de poda da Quinta do Gradil (Cadaval).	38
Figura 11. Número médio (\pm desvio padrão) de indivíduos de <i>Parthenolecanium corni</i> , por estado de desenvolvimento (N1=ninfa de 1º instar, N2=ninfa de 2º instar e N3=ninfa de 3º instar) em cada modalidade de poda (manual e mecânica), na parcela de ensaio de poda da Quinta do Gradil (Cadaval). Colunas acompanhadas pela mesma letra não são significativamente diferentes (Teste Tukey HSD, $p > 0,05$).	39
Figura 12. Distribuição do número médio de indivíduos (\pm desvio padrão) de <i>Parthenolecanium corni</i> , por estado de desenvolvimento (N1=ninfa de 1º instar, N2=ninfa de 2º instar, N3=ninfa de 3º instar), ao longo do tempo, na modalidade de poda manual, na parcela de ensaio de poda da Quinta do Gradil (Cadaval) (4 sarmentos/videira e 30 videiras/modalidade).	40
Figura 13. Distribuição do número médio de indivíduos (\pm desvio padrão) de <i>Parthenolecanium corni</i> , por estado de desenvolvimento (N1=ninfa de 1º instar, N2=ninfa de 2º instar, N3=ninfa de 3º instar), ao longo do tempo, na modalidade de poda mecânica, na parcela de ensaio de poda da Quinta do Gradil (Cadaval) (4 sarmentos/videira e 30 videiras/modalidade).	40
Figura 14. Distribuição do número médio de indivíduos (\pm desvio padrão) de <i>Parthenolecanium corni</i> , por estado de desenvolvimento (N1=ninfa de 1º instar, N2=ninfa de 2º instar, N3=ninfa de 3º instar), em cada modalidade de poda (manual e mecânica) (total de 30 videiras observadas, por parcela), na Quinta do Gradil (Cadaval) e na Quinta do Côro (Sardoal). Colunas acompanhadas pela mesma letra não são significativamente diferentes, separadamente, para cada um dos estados de desenvolvimento (Teste Tukey HSD, $p > 0,05$).	41
Figura 15. Distribuição do número médio de indivíduos (\pm desvio padrão) de <i>Parthenolecanium corni</i> , por estado de desenvolvimento (N1=ninfa de 1º instar, N2=ninfa de 2º instar, N3=ninfa de 3º instar), em cada nível de fertilização (ESTR – estrume de bovino, RSUC – resíduos sólidos urbanos compostados, ETAR – lamas de estação de tratamentos de águas residuais, BIOC – carvão vegetal, e TEST – testemunha, sem aplicação de fertilizantes) (total de 30 videiras observadas, por parcela), na Quinta do Gradil (Cadaval) e Quinta do Côro (Sardoal). Colunas acompanhadas pela mesma letra não são significativamente diferentes, separadamente, para cada um dos estados de desenvolvimento (Teste Tukey HSD, $p > 0,05$).	42

1. INTRODUÇÃO

Existem várias espécies de cochonilhas, em Portugal, associadas à vinha. Godinho & Franco (2001) referem que estas são um insecto comum em vinhas. As cochonilhas, em geral, têm sido alvo de estudo em Portugal. No entanto, a incidência dos estudos realizados mais recentemente está maioritariamente associada a cochonilhas-algodão, uma vez que estas são das mais comuns na agronomia portuguesa. Franco (1997), Franco *et al.* (2000), Silva (2000), Godinho (2001), Godinho & Franco (2001), Martins (2009) são autores de estudos realizados em Portugal sobre este grupo de cochonilhas, nomeadamente nas culturas de citrinos e vinha.

No seu trabalho sobre a Protecção Integrada da cultura da vinha na Região Norte de Portugal, Amaro *et al.* (2004) não considera nenhuma espécie de cochonilha como praga chave. Segundo Silva (2000), o estatuto de praga pode variar ao longo do tempo, podendo existir determinadas condições que favoreçam ou que prejudiquem o desenvolvimento das populações de artrópodes. As cochonilhas, como praga, têm vindo a mudar o seu estatuto, sendo que cada vez mais existem referências ao acréscimo da sua importância (Godinho, 2001; Botton *et al.*, 2002; Afonso *et al.*, 2004; Afonso *et al.*, 2006, e Daane *et al.* 2008).

Relativamente às cochonilhas-lapa, estas não foram ainda pormenorizadamente estudadas em Portugal. A informação recente sobre a presença e desenvolvimento destas espécies é quase nula, à excepção de Carlos *et al.* (2008) relativamente à Região Demarcada do Douro.

A poda compreende a remoção dos sarmentos, ladrões, folhas e outras partes vegetativas da videira (Winkler *et al.*, 1974). A poda em sebe é um sistema de pré-poda curta que consiste em deixar o conjunto da base dos sarmentos ao longo de um cordão permanente (Lopes *et al.*, 1995). De todas as técnicas culturais, a poda é aquela que provoca as implicações fisiológicas mais importantes uma vez que condiciona o crescimento dos órgãos vegetativos, a produção, o microclima do coberto vegetal, a maturação dos frutos e a perenidade da planta (Champagnol, 1984).

De acordo com Zabadal *et al.* (2002), a poda é a operação mais importante do ciclo anual do manejo vitícola, uma vez que é, na maioria das situações, a única forma de ajustar o nível de produção das videiras e de manter a sua estrutura. Esta operação tem por objectivos dar a forma desejada à planta e regularizar o crescimento vegetativo e reprodutivo de acordo com um dado potencial de crescimento genético e ambiental, de forma a assegurar, por um lado, uma produção suficiente de frutos de qualidade e, por outro, a perenidade da planta. Esta operação permite também prolongar a vida das plantas através do rejuvenescimento de videiras envelhecidas (Martins, 2009).

Na poda mecânica, as videiras não são “analisadas” uma a uma e, por isso a decisão de carga à poda é muito relativa; essa decisão deve ser tomada em geral para todas as videiras, de forma a chegar ao objectivo de produção pretendido (Castro *et al.* 2006). Em geral, este tipo de poda provoca uma carga à poda superior à poda manual, as videiras dão prioridade ao crescimento vegetativo gerando uma maior área e densidade foliar (Lopes *et al.*, 1995; Castro *et al.*, 2006; Camilo, 2009).

As podas e as intervenções em verde, além da grande importância em proporcionar as condições mais favoráveis à obtenção de elevados níveis de produção de uvas de qualidade, devem ser efectuadas de modo a desfavorecer o desenvolvimento de alguns inimigos das culturas, facilitando a penetração de luz e o arejamento, eliminando assim potenciais fontes de propagação (Amaro, 2003).

Morris & Cawthon (1981) realizaram um estudo onde compararam a poda manual com a poda mecânica com correcção manual. Esse estudo demonstrou que o mosto obtido de cepas sujeitas à poda mecânica sem correcção manual não atingiu os parâmetros de qualidade pretendidos e ainda se verificou uma redução da produção, tanto que no ano seguinte estas videiras não produziram mais que as de poda manual.

De acordo com Lopes *et al.* (1995), a poda em sebe pode ser aplicada em vinha sem causar demasiados danos quer na qualidade do vinho quer na longevidade/perenidade da videira. No mesmo estudo foi também demonstrado que apesar dos resultados não serem negativos, a auto-regulação da videira não se mostrou eficiente ao ponto de compensar no número de olhos e cachos por cepa.

Para além da poda, no presente trabalho tem-se em conta os tipos de fertilizantes usados nas vinhas, uma vez que o tipo de fertilização utilizada pode ter influência no desenvolvimento de pragas e doenças. De acordo com vários autores, Amaro (2003), Castro *et al.* (2006), Garrat *et al.* (2011) entre outros, estão bem demonstradas as consequências do excesso de azoto, traduzidas por maior vigor e desenvolvimento vegetativo da videira, assim como os efeitos dos fertilizantes nas características morfológicas das plantas hospedeiras, como o aumento do crescimento foliar, têm vindo a mostrar influência sobre o desenvolvimento de pragas e de doenças.

Enquanto os efeitos dos pesticidas e de práticas culturais sobre pragas e inimigos naturais são bem estudados, as consequências da utilização de fertilizantes associados ao modo de produção biológica ou convencional não são tão evidentes. Os fertilizantes sintéticos, em particular o azoto, têm vindo a ser relacionados com o aumento da ocorrência de pragas, particularmente insectos picadores-sugadores (Hasken & Poehling, 1995; Bethke *et al.*, 1998; Bi *et al.*, 2001; Garrat *et al.*, 2011). Garrat *et al.* (2011) sugerem que a agricultura biológica tem um efeito positivo no comportamento e na

abundância de inimigos naturais. Este efeito torna-se significativo quando são consideradas, em conjunto, mais que uma espécie. Existem outros dois estudos (Östman *et al.*, 2001) que estão de acordo com os autores atrás referidos, sendo que demonstram que a incidência de pragas é menor quando se trata de uma cultura com práticas culturais de modo de produção biológica.

É importante a continuidade de estudos relacionados com a cultura da vinha, no que respeita à optimização do processo produtivo. Assim o projecto FERTILPODA visa conceber e testar em vinha um novo processo produtivo: poda totalmente mecanizada (poda em sebe), que conduza ao aumento da produtividade das vinhas e à redução dos custos de produção associados, mantendo a qualidade das uvas. Para realizar este projecto torna-se necessário o aumento da fertilidade do solo através da incorporação de matéria orgânica, que permita combater o declínio do vigor das videiras. Este projecto terá uma duração de quatro anos, tendo iniciado no princípio do ano 2012. O presente estudo encontra-se integrado, no projecto FERTILPODA, no quadro de monitorização/avaliação do estado sanitário das videiras.

O presente estudo tem como principais objectivos: i) caracterização do complexo de cochonilhas associadas à vinha, no que respeita à identificação, biologia e ciclo biológico na região centro de Portugal; ii) avaliação da potencial interacção entre diferentes tipos de poda (poda mecânica e poda manual) e diferentes tipos fertilização (estrume de bovino, resíduos sólidos urbanos compostados, lamas de estação de tratamentos de águas residuais, biocarvão) e a intensidade populacional das diferentes espécies de cochonilhas; iii) identificação de parasitóides.

2. CARACTERIZAÇÃO DAS COCHONILHAS NA CULTURA DA VINHA

2.1. Importância das cochonilhas em vinha

No Brasil *Parthenolecanium persicae* (Fabricius, 1776) (Hemiptera: Coccidae), é considerada praga-chave em vinha, (Botton *et al.*, 2002; Afonso *et al.*, 2004; Afonso *et al.*, 2006). No entanto, Botton *et al.* (2002) referem que *Parthenolecanium corni* (Bouché, 1844) (Hemiptera: Coccidae) não assume neste país, a mesma importância que *P. persicae*, mas que na Europa tem vindo assumir uma relevância cada vez maior devido à associação desta espécie (*P. corni*) com a transmissão de vírus do enrolamento da videira (GLRaV).

Coutinho referiu, em 1945, a existência de quatro cochonilhas na vinha em Portugal, o algodão, *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae), a pulvinária *Pulvinaria vitis* (L.) (Hemiptera: Coccidae), e as lapas *P. corni* e *P. persicae*, dando maior importância às cochonilhas-algodão. Almeida (1954) também referiu *P. corni* como praga da vinha em Portugal. Guimarães (1973), num estudo sobre as pragas das culturas em Portugal continental, assinalou *P. vitis*, *P. corni* e *P. persicae* como cochonilhas associadas à vinha. Mais tarde, para o Arquipélago da Madeira, Vieira *et al.* (1983), assinalaram a presença de *P. persicae* em vinha, referindo que esta foi identificada pela primeira vez nesta região por Vieira (1951).

A nível mundial as cochonilhas que assumem maior importância são as cochonilhas-algodão, *Planococcus ficus* (Signoret, 1875) (Hemiptera: Pseudococcidae), enquanto as cochonilhas-lapa, *P. vitis*, *P. corni*, *Parthenolecanium betulae* (Linnaeus, 1758) (Hemiptera: Coccidae) e *P. persicae* são coccídeos que geralmente também estão presentes em vinha. Vieira *et al.* (1983) referiram que desde 1976, *P. persicae* assumiu maior importância económica nas vinhas do Arquipélago da Madeira. No entanto, estas últimas espécies referidas de cochonilhas-lapa são menos frequentes e assumem menor importância económica (Yasnosh *et al.*, 2001; Daane *et al.*, 2008).

As cochonilhas-lapa, em geral, são altamente polípagas pelo que se podem alimentar em várias espécies diferentes de plantas hospedeiras. Guimarães (1973) referiu que *P. corni* pode estar associada a outras culturas como ameixeira, amendoeira, amoreira, nogueira, *Robinia pseudoacacia* (Linnaeus, 1753), videira, macieira, pessegueiro, damasqueiro e limoeiro, tendo sido assinalada em Trás-os-Montes, Douro, Beira Litoral, Beira-baixa, Estremadura (Lisboa), Ribatejo (Tejo) e Alentejo. Mais recentemente Danzig (1997) salienta que a espécie *P. corni* já foi identificada em cerca 350 espécies de hospedeiros vegetais.

Para *P. persicae*, (Guimarães, 1973) refere que pessegueiro, damasqueiro, ameixeira, amoreira, videira e laranjeira são os hospedeiros comuns para esta espécie, sendo que as regiões assinaladas com a sua presença são Minho, Beira Litoral (Beira Atlântico), Estremadura (Lisboa), Ribatejo (Tejo) e Algarve.

2.2. Posição sistemática e sinonímia

Relativamente às espécies de *Planococcus*, em concreto *P. ficus*, existem imensas publicações que apresentam uma complexa sinonímia para esta espécie; como tal, neste trabalho optou-se por apresentar apenas um resumo para *P. ficus*.

Segundo Franco *et al.* (2000) a posição sistemática desta espécie de cochonilha-algodão é a seguinte:

Ordem: Hemiptera

Subordem: Sternorrhyncha

Superfamília: Coccoidea

Família: Pseudococcidae

Género: *Planococcus* (Ferris, 1950)

Espécie: *Planococcus ficus* (Signoret, 1875)

A sinonímia de *P. ficus*, segundo Ben-Dov & Miller (2012a) é a seguinte:

Dactylopius ficus Signoret, 1875; *Dactylopius vitis* Signoret, 1875 *Dactylopius subterraneus* Hempel, 1901; *Pseudococcus ficus* Fernald, 1903; *Pseudococcus vitis* Fernald, 1903; *Coccus vitis* Lindinger, 1912; *Pseudococcus vitis* Leonardi, 1920 *Pseudococcus citrioides* Ferris, 1992; *Pseudococcus vitis* Bodenheimer, 1924; *Pseudococcus citri*, Balachowsky & Mesnil, 1935; *Coccus vitis* Borchsenius, 1949; *Dactylopius ficus* Borchsenius, 1949; *Planococcus citrioides* Ferris, 1950; *Planococcus vitis* Ezzat & McConnell, 1956; *Planococcus ficus* Ezzat & McConnell, 1956; *Pseudococcus praetermissus* Ezzat, 1962; *Planococcus vitis* Matile-Ferrero, 1984.

Para as cochonilhas-lapa, particularmente as espécies *P. corni* e *P. persicae*, optou-se por apresentar uma sinonímia para estas duas espécies referidas o mais completa possível.

Segundo Ben-Dov & Hodgson (1997) e Fauna Europaea (2012) a posição sistemática destas duas espécies de cochonilhas-lapa é a seguinte:

Ordem: Hemiptera

Subordem: Sternorrhyncha

Superfamília: Coccoidea

Família: Coccidae

Género: *Parthenolecanium* (Sulc, 1908)

Espécie: *Parthenolecanium corni* (Bouché, 1844)

Espécie: *Parthenolecanium persicae* (Fabricius, 1776)

A sinonímia de *P. corni*, segundo Ben-Dov & Miller (2012b) é a seguinte:

Lecanium corni Bouché, 1844; *Lecanium vini* Bouché, 1851; *Coccus tiliae* Fitch, 1851; *Lecanium ribis* Fitch, 1857b; *Lecanium cynosbati* Fitch, 1857c; *Lecanium juglandifex* Fitch, 1857e; *Lecanium corylifex* Fitch, 1857e; *Lecanium fitchii* Signoret, 1873; *Lecanium rugosum* Signoret, 1873^a; *Lecanium tarsalis* Signoret, 1873; *Lecanium wistariae* Signoret, 1873; *Lecanium robiniarum* Douglas, 1890c; *Lecanium armeniacum* Craw, 1891; *Lecanium assimile* Newstead, 1892; *Lecanium lintneri* Cockerell & Bennett in Cockerell, 1895h; *Lecanium caryae canadense* Cockerell, 1895; *Lecanium pruinatum armeniacum* Tyrrell, 1896; *Lecanium (Eulecanium) corylifex* Cockerell, 1896b; *Lecanium (Eulecanium) rugosum* Cockerell, 1896b; *Lecanium (Eulecanium) lintneri* Cockerell, 1896b; *Lecanium crawii* Ehrhorn, 1898; *Lecanium (Eulecanium) caryarum* Cockerell, 1898; *Lecanium canadense* Cockerell, 1898; *Lecanium (Eulecanium) maclurarum* Cockerell, 1898j; *Eulecanium crawii* Cockerell, 1898; *Lecanium (Eulecanium) kingii* Cockerell, 1898; *Lecanium (Eulecanium) canadense* Cockerell & Parrott, 1899; *Lecanium (Eulecanium) armeniacum* Cockerell & Parrott, 1899; *Lecanium (Eulecanium) cynosbati*; Cockerell & Parrott, 1899; *Lecanium (Eulecanium) ribis* Cockerell & Parrott, 1899; *Lecanium (Eulecanium) tarsale* Cockerell & Parrott, 1899; *Lecanium (Eulecanium) fitchii* Cockerell & Parrott, 1899; *Lecanium (Eulecanium) crawii* Cockerell & Parrott, 1899; *Lecanium maclurae* Hunter, 1899^a; *Lecanium kansasense* Hunter, 1899^a; *Lecanium (Eulecanium) aurantiacum* Hunter, 1900; *Lecanium adenostomae* Kuwana, 1901; *Lecanium (Eulecanium) vini* King & Reh, 1901; *Lecanium rehi* King in King & Reh, 1901; *Lecanium websteri* Cockerell & King in King, 1901; *Eulecanium vini* Cockerell, 1901b; *Eulecanium corylifex* King, 1901; *Eulecanium maclurarum* King, 1901i; *Eulecanium fitchii* King, 1901j; *Eulecanium guignardi* King, 1901j; *Eulecanium rosae* King, 1901j; *Eulecanium kansasense* King, 1902b; *Eulecanium websteri* King, 1902b; *Eulecanium cynosbati* King, 1902c; *Eulecanium fraxini* King, 1902d; *Eulecanium robiniarum* Cockerell, 1902g; *Lecanium obtusum* Thro, 1903; *Lecanium (Eulecanium) assimile* Reh, 1903; *Lecanium (Eulecanium) robiniarum* Reh, 1903; *Lecanium (Eulecanium) rosarum* Reh, 1903; *Lecanium (Eulecanium) ribis* Reh, 1903; *Eulecanium adenostomae*

Fernald, 1903b; *Eulecanium armeniacum* Fernald, 1903b; *Eulecanium assimile* Fernald, 1903; *Eulecanium aurantiacum* Fernald, 1903b; *Eulecanium canadense* Fernald, 1903b; *Eulecanium caryarum* Fernald, 1903b; *Eulecanium corni* Fernald, 1903b; *Eulecanium crawii* Fernald, 1903b; *Eulecanium kingii* Fernald, 1903b; *Eulecanium lintneri* Fernald, 1903b; *Eulecanium obtusum* Fernald, 1903b; *Lecanium folsomi* King, 1903b; *Eulecanium rehi* Fernald, 1903b; *Eulecanium ribis* Fernald, 1903b; *Eulecanium rugosum* Fernald, 1903b; *Eulecanium tarsale* Fernald, 1903b; *Eulecanium websteri* Fernald, 1903b; *Eulecanium folsomi* Cockerell, 1905e; *Lecanium coryli* Šulc, 1908; *Lecanium corni robiniarum* Marchal, 1908^a; *Lecanium persicae crudum* Green, 1917; *Parthenolecanium coryli* Šulc, 1932; *Lecanium corni robiniarum* Tschorbadjiew, 1939; *Eulecanium corni corni* Schmutterer, 1952; *Parthenolecanium corni* Borchsenius, 1957; *Lecanium vini* Boratynski, 1970; *Lecanium websteri* Ben-Dov, 1993; *Parthenolecanium corni* Moghaddam, 2009.

Para esta espécie, Guimarães (1973) assinalou como sinónimos *Lecanium corni* (Bouché), *Lecanium assimile* Newstead e *Parthenolecanium corni* (Bouché).

Quanto a *P. persicae*, segundo Ben-Dov & Miller (2012c), a sinonímia é a seguinte:

Coccus persicorum Sulzer, 1776; *Chermes persicae* Fabricius, 1776; *Coccus clematidis* Goeze, 1778; *Coccus costatus* Schrank, 1781; *Coccus clematidis* Gmelin, 1790; *Coccus persicae*; Fonscolombe, 1834; *Lecanium persicae*; Bouché, 1844; *Lecanium berberidis*; Walker, 1852; *Lecanium cymbiformis* Targioni Tozzetti, 1868; *Lecanium elongatum* Signoret, 1873; *Lecanium genistae* Signoret, 1873; *Lecanium mori* Signoret, 1873; *Lecanium rosarum* Signoret, 1873; *Lecanium sarothamni* Douglas, 1891; *Coccus spini* Heyden, 1894; *Coccus (Lecanium) persicae* Frank, 1896; *Lecanium (Eulecanium) mori* Cockerell, 1896; *Lecanium magnoliarum* Cockerell, 1897; *Lecanium berberidis* Maskell, 1897; *Lecanium berberidis major* Maskell, 1898; *Lecanium magnoliarum* Cockerell, 1898i; *Lecanium (Eulecanium) magnoliarum* Cockerell & Parrott, 1899; *Coccus mori* Kirkaldy, 1902; *Lecanium (Eulecanium) berberidis* Cockerell & Parrott, 1899; *Eulecanium magnoliarum hortensiae* Cockerell, 1903; *Lecanium (Eulecanium) persicae* Reh, 1903; *Coccus elongatus* Fernald, 1903b; *Coccus genistae* Fernald, 1903b; *Eulecanium berberidis major* Fernald, 1903b; *Eulecanium cecconi* Leonardi, 1908; *Lecanium cecconi* Sanders, 1909b; *Lecanium nigrofasciatum* Borg, 1919; *Lecanium cymbyformis* Leonardi, 1920; *Lecanium persicae* Green, 1928; *Lecanium (Parthenolecanium) persicae*, Šulc, 1932; *Palaeolecanium costatum* Lindinger, 1935; *Palaeolecanium persicae* Lindinger, 1935; *Lecanium (Eulecanium) spinosum* Brittin, 1940; *Parthenolecanium persicae* Borchsenius, 1957; *Lecanium persicae goidanichi* Kaweck, 1962; *Parthenolecanium thymi* Danzig, 1967; *Lecanium berberidis* Boratynski, 1970a; *Lecanium persicae persicae* Kaweck, 1971; *Parthenolecanium persicae spinosum* Ben-Dov, 1993.

Guimarães (1973) referiu que para esta espécie eram conhecidos três sinónimos, *Coccus persicae* (F.), *Lecanium rosarum* Signoret e *Parthenolecanium persicae* (F.)

2.3. Nomes Vulgares

Em Portugal, os nomes vulgares pelos quais os pseudococcídeos são designados reflectem, por um lado, o seu aspecto mais ou menos farinhoso, resultante das secreções cerosas produzidas e, por outro lado, o aspecto algodinoso conferido pelos aglomerados de fêmeas e sacos ovíferos. Surgiram, assim, as designações de cochonilhas-algodão, algodões ou alforras (Franco *et al.* 2000). A nível internacional, as cochonilhas-algodão, *P. ficus*, são conhecidas pelas seguintes designações cocciniglia farinosa della vite; cotonet de la vid; grapevine mealybug; la cochenille farineuse de la vigne; Mediterranean vine mealybug; subterranean vine mealybug e vine mealybug (Godinho, 2001).

Para as cochonilhas-lapa, tal como o nome sugere, em Portugal, ficaram conhecidas como lapa da videira, lapa da cornilheira e lapa do pessegueiro (Guimarães, 1973). No Arquipélago da Madeira, *P. persicae*, por ser a maior das espécies de coccídeos presentes, ficou conhecida como lapa grande (Vieira *et al.*, 1983). Para *P. corni*, Guimarães (1973) citou, como nomes vulgares estrangeiros, cochinilla de la vid, lecanium du cornouiller, l. de la vigne, european fruit scale, european peach scale, cocciniglia del corníolo, gemeine napfschildlaus, zwetschgen-napfchildlaus e Ben-Dov & Miller (2012b) acrescentam ainda as designações de la cocciniglia del susino e gewonliche schildlaus .

Parthenolecanium persicae, noutros países é conhecida como Cochinilla del melocotonero, cochenille du pêcher, Obloug scale, European peach scale, Cocciniglia del pesco e Pfirsichschildlaus (Guimarães, 1973).

2.4. Distribuição Geográfica

A cochonilha-algodão, segundo Cox (1989), Ben-Dov (1993) e Kozár & Ben-Dov (1997), *P. ficus* está assinalada em 40 países, distribuídos pelas regiões Afrotropical, Neártica, Neotropical, Paleártica e Oriental. Segundo Cox & Wetton (1988), a região de origem desta espécie é, provavelmente, a Bacia do Mediterrâneo, ou seja, a região Paleártica.

Tal como as cochonilhas-algodão, as cochonilhas-lapa encontram-se distribuídas em vários países produtores de vinho, como Argentina, Chile, China, Estados Unidos (Califórnia), Espanha, França, Itália, Alemanha, Grécia, e Ásia Central (Ben-Dov & Hodgson, 1997; Botton *et al.*, 2002; Sforza *et al.*,

2003; Stathas *et al.*, 2003; Afonso *et al.*, 2004; Daane *et al.*, 2008; Rainatto & Pellizzari, 2009). A família Coccidae conta com cerca de 1100 espécies identificadas, que se encontram distribuídas em todas as regiões zoogeográficas (Kózar & Ben-Dov, 1997).

Segundo Kózar & Ben-Dov (1997) e Fauna Europaea (2012) o género *Parthenolecanium* está presente na região Paleártica com 7 espécies identificadas. Na região Neártica foram identificadas duas espécies e na região da Nova Zelândia apenas foi identificada uma espécie. Este género está amplamente distribuído entre as duas primeiras regiões assinaladas, tendo o maior número de espécies endémicas nas mesmas. *P. corni* é exemplo de uma espécie bem distribuída nestas duas regiões.

2.5. Morfologia

Normalmente são utilizadas fêmeas adultas para a identificação de espécies de cochonilhas-lapa. Muito poucas são as espécies que podem ser identificadas com base na sua aparência antes de atingirem a maturidade. O aspecto das cochonilhas é consideravelmente afectado por condições ambientais, pela distribuição geográfica, pela espécie de planta hospedeira, pelo local onde nela se encontram, pela época do ano, entre outros (Williams, 1997; Marotta, 1997). No entanto Rainatto & Pellizzari (2009) referem que na ausência de fêmeas adultas podem ser utilizadas preparações microscópicas de jovens instares, que possam estar presentes na planta hospedeira, durante mais de um ano as quais podem ajudar na identificação das espécies.

Como muitas outras espécies, *P. corni* é aparentemente muito variável morfologicamente consoante os efeitos que cada planta hospedeira induz (Kosztarab & Kózar, 1988). Segundo Stepaniuk & Lagowska (2006), existe uma notável incerteza no que diz respeito à identificação de espécies de *Parthenolecanium*. Das sete espécies identificadas na Europa, as que foram assinaladas em árvores e arbustos incluem, *P. corni*, *P. persicae*, *Parthenolecanium fletcheri* (Cockerell, 1893) (Hemiptera: Coccidae), *Parthenolecanium pomericum* (Kawecki, 1954) (Hemiptera: Coccidae) e *Parthenolecanium rufulum* (Cockerell, 1903) (Hemiptera: Coccidae) e quase todas estas espécies são muito semelhantes morfologicamente. Estas espécies partilham muitas características morfológicas, incluindo algumas específicas que muitas vezes são utilizadas para a classificação e identificação das espécies. Os autores referem ainda que alguns membros deste género (e. g., *P. pomericum*, *P. fletcheri* e *P. rufulum*) tendem a ser encontrados em apenas algumas espécies de plantas hospedeiras, enquanto outras espécies (e. g., *P. corni* e *P. persicae*) são extremamente polífagas e

podem viver na mesma planta hospedeira, simultaneamente (Guimarães, 1973; Stepaniuk & Lagowska, 2006; Rainatto & Pellizzari, 2009). Relativamente às outras duas espécies deste género, referenciadas na Europa (Fauna Europaea, 2012), nomeadamente *Parthenolecanium perlatum* (Cockerell, 1898) e *Parthenolecanium smreczynskii* (Kawecki, 1967) (Hemiptera: Coccidae), não se encontrou bibliografia referente à sua morfologia.

Como já foi referido, a morfologia de *P. corni* pode sofrer algumas variações consoante o hospedeiro vegetal onde se encontra. Assim, a forma, o tamanho e a coloração da fêmea adulta variam entre diferentes espécies de plantas hospedeiras. Devido a estas variações taxonómicas, foi reconhecido um conjunto de espécies próximas de *P. corni* ("*corni*-complex"), em que estas diferem principalmente no número de tubérculos submarginais em fêmeas (Danzig, 1997). Os formatos extremos desta espécie variam entre o quase redondo e extremamente convexo, em *Prunus*, até à forma alongada e achatada em *Robinia*. Este polimorfismo levou ao aparecimento de uma ampla sinonímia. Săvescu (1944) descreveu 11 formas ecológicas em diferentes plantas hospedeiras na Roménia. Mais cedo, Marchal (1908) aceitou existirem variedades diferentes dentro da mesma espécie.

Em ensaios experimentais baseados em transferência de plantas hospedeiras, Ebeling (1938) e Habib (1957) mostraram que algumas estruturas morfológicas são afectadas consoante a planta hospedeira, concluindo que *P. corni* se adapta facilmente à nova planta hospedeira, mudando a sua forma, para a forma típica encontrada no novo hospedeiro.

Em paralelo com as variações extremas da sua aparência externa, *P. corni* varia também ao nível de características microscópicas. A diferença mais relevante está associada ao número de tubérculos submarginais entre as fêmeas adultas e ninfas de segundo instar (Danzig, 1997; Stepaniuk & Lagowska, 2006). Os tubérculos submarginais, presentes nas fêmeas adultas, representam uma característica taxonómica importante, embora possam variar no tamanho, em número e nas combinações na medida em que servem para separar alguns géneros e espécies da família Coccidae, e. g., são úteis para identificar espécies dentro do género *Parthenolecanium* (Gill, 1988; Kosztarab & Kózar 1998; Kosztarab, 1996).

As ninfas de primeiro instar de *P. corni* têm duas linhas longitudinais de poros binoculares no dorso. No segundo instar, as ninfas têm, em geral, tubérculos submarginais dorsais, no entanto o seu número pode variar ou ser reduzido (Stepaniuk & Lagowska, 2006). Segundo Canard (1960), *P. corni* tem 16 sedas marginais entre os olhos e 22 sedas entre a região posterior do estigma e a área da fenda anal.

De acordo com diferentes autores (Canard, 1960; Dziedzicka, 1968; Schumutterer, 1954; Kawecki, 1958) existem características que permitem distinguir *P. corni* de outras espécies muito semelhantes como *P. rufulum*, sendo que *P. corni* pode apresentar entre 70-105 (média de 89) sedas marginais.

As fêmeas mortas apresentam, em geral, cor castanha sendo semelhantes a uma concha, que varia da forma convexa a piramidal ou hemisférica de perfil, que por vezes se pode apresentar ressequida e mirrada. No ciclo evolutivo de *P. corni* a sua cor difere consoante a época do ano e com a região da planta em que se encontra. O primeiro instar caracteriza-se por ser transparente amarelo-esverdeado, assumindo a cor do substrato. As fêmeas jovens adultas antes da fase de postura, ninfas de segundo e de terceiro instar ocorrem, em geral, nos sarmentos, camufladas da cor dos mesmos, com manchas acastanhadas e irregulares tornando-se difíceis de detectar em observação de campo (Gill, 1988).

Em preparações microscópicas definitivas, o corpo das fêmeas adultas de *P. corni*, em geral apresenta-se, na forma oval alongada sendo mais amplo na região do abdómen; a fenda anal apresenta cerca de 1/6 do comprimento do corpo e medem aproximadamente 1,0 mm – 4,3 mm de comprimento e 0,7 mm – 3,0 mm de largura (Hodgson, 1994).

Parthenolecanium corni é caracterizada pela fina e comprida parte interna dos ductos ventrais, pelas diferentes condições das sedas do corpo, da margem e dos espiráculos, e ainda, pela ausência de ductos bicilíndricos dorsais bem desenvolvidos (Marchal, 1908; Boratynski, 1969)

Nos ensaios realizados por Afonso *et al.* (2006) e por Brittin (1939) foram medidos o comprimento e a largura de todos os instares ninfais de *P. persicae*, apresentando valores semelhantes. Nos resultados de Afonso *et al.* (2006) as ninfas de primeiro instar mediram em média 0,6 mm de comprimento e 0,2 mm de largura, enquanto as ninfas de segundo instar atingiram 1,1 mm de comprimento e 0,6 mm de largura. O terceiro instar mostrou-se aquele em que as cochonilhas-lapa se fixam de modo permanente, apresentando 3,5 mm de comprimento e 1,8 mm de largura. As fêmeas adultas apresentaram, neste ensaio, uma coloração castanho escura, com o escudo oval e com 7,6 mm e 3,7 mm de comprimento e largura, respectivamente. Para Brittin (1939) as ninfas de primeiro instar de *P. persicae* mediram 0,34 mm de comprimento e 0,18 mm de largura. O segundo instar apresentou dimensões de comprimento de 1,04 mm e 0,37 mm de largura, enquanto no terceiro instar as dimensões de comprimento encontravam-se entre 1,10 mm e 1,48 mm, e as de largura entre 0,60 mm e 0,82 mm. Segundo este autor o comprimento das fêmeas adultas está compreendido entre 4,65 mm e 9,20 mm, e a largura pode assumir dimensões entre 3,5 mm e 6,28 mm.

2.6. Biologia

Segundo Marotta (1997) as ninfas de primeiro instar da família Coccidae representam a fase mais activa, e também a responsável pela selecção do local onde mais tarde se fixam na planta hospedeira para se alimentarem.

O primeiro instar ninfal apresenta geralmente um período de tempo curto, mas mesmo assim é possível diferenciar alguns períodos e comportamentos neste instar. Após a eclosão verifica-se um pequeno período em que as ninfas permanecem imóveis debaixo do corpo da fêmea adulta. Este período de tempo pode ser afectado pelas condições ambientais, principalmente pela temperatura, humidade, vento, e luz. A duração deste instar pode durar apenas alguns minutos, horas ou até mesmo dias. Normalmente, as ninfas instalam-se num raio de um metro (máximo) da sua progenitora. A selecção de um local apropriado para a alimentação é um factor muito importante para o desenvolvimento ninfal, o insucesso na sua fixação é considerado o maior factor de mortalidade em muitas espécies e, por isso, também em *P. corni* a taxa de mortalidade é mais elevada durante o primeiro instar. Esta fase é também considerada a mais susceptível aos efeitos (letais) dos insecticidas. Uma vez instaladas, as ninfas inserem as suas armaduras bucais, nos tecidos das plantas e começam a alimentar-se a partir do floema (Marotta, 1997).

Depois de completar o crescimento, as ninfas param de se alimentar e sofrem a sua primeira muda. Nas ninfas de segundo instar o corpo aumenta essencialmente de tamanho e depois sofre a muda para o terceiro instar. O terceiro instar é facilmente confundido com a fase de adulto no que respeita à aparência externa. No entanto, o aparecimento de característica, como orifícios genitais (vulva) e a modificação do tegumento do sistema secretor são particulares da fase de adulto, permitindo assim a distinção destas duas fases de desenvolvimento das cochonilha-lapa (Marotta, 1997).

Verifica-se, inicialmente, um período de aumento do tamanho do corpo, geralmente até atingirem o tamanho de fêmea adulta. Associado a este crescimento verifica-se a alteração da cor, as cochonilhas tornam-se ligeiramente mais escuras e o dorso começa a tornar-se esclerotizado (Marotta, 1997). Os adultos fêmea da cochonilha-lapa possuem armaduras bucais que lhes possibilitam realizar a sua alimentação no floema da videira. Depois da última muda e antes de se posicionarem para a postura, as fêmeas de *P. corni* aumentam de tamanho e volume até 6 vezes (Habib, 1957).

Quando o período de crescimento termina o dorso ventral começa a “inchar”, tornando-se convexo. Este processo está dependente do desenvolvimento dos ovários e de todo o sistema reprodutor, assim como da acumulação de ovos. Em diversos géneros dentro da família Coccidae os ovos são depositados debaixo do ventre da fêmea. Esta “câmara” é formada pelo desenvolvimento

progressivo da cavidade abaixo do abdómen. Geralmente, os ovos encontram-se uniformemente cobertos de filamentos cerosos que os protegem de destruição como dessecação ou rebentamento. O número de ovos por fêmea tem enorme variabilidade inter e intraespécies (Marotta, 1997).

De acordo com Godinho (2001), a informação publicada sobre a biologia de *P. ficus* é escassa, opinião partilhada por Franco (1997), que acrescenta a inexistência de taxonomistas especializados e a incerteza na identificação específica do material recolhido em vinha, respectivamente.

Na Primavera, acompanhando a rebentação, as cochonilhas-algodão invadem a parte aérea das videiras, fixando-se nos sarmentos e nas folhas, sobretudo na página inferior, sendo vulgar a sua presença na nervura central. No verão invadem, também, os cachos e no outono regressam aos locais de hibernação (Amaro *et al.* 2004).

2.7. Ciclo de vida

Parthenolecanium corni e *P. persicae* são duas espécies da família Coccidae em que, devido à sua similaridade morfológica e ao facto de ocorrerem muitas vezes em conjunto, a sua distinção torna-se difícil (Afonso *et al.*, 2004).

Segundo Botton *et al.* (2002), cada fêmea deposita cerca de 1000 a 2600 ovos, os quais apresentam uma viabilidade de 90%. Depois deste período terminado a fêmea morre; no entanto, o seu escudo continua fixo para proteger os ovos durante o período de incubação, que dura normalmente 15 a 30 dias, dependendo das condições ambientais.

Stathas *et al.* (2003) observaram ninfas de primeiro e de segundo instar de *P. persicae* a partir de Junho, no sul da Grécia. No entanto Botton *et al.* (2002) refere que a segunda muda ocorre no verão (Julho/Agosto), sendo que em meados de Outubro as ninfas se deslocam das folhas para os sarmentos (época em que as folhas começam a cair). Entram em diapausa no segundo instar ninfal, passando o inverno praticamente imóveis. Em Março/Abril ocorre a terceira muda, as cochonilhas completam o seu ciclo de vida tornando-se adultos, e o ciclo recomeça novamente. Os adultos emergem no início da primavera, em meados de Abril (Stathas *et al.*, 2003). As ninfas eclodem no período de Abril a Junho e é nesta fase que surgem as ninfas de primeiro instar (i. e., ninfas móveis ou “crawlers”) (Botton *et al.*, 2002). É também nesta altura que as ninfas se deslocam para os sarmentos do ano e para as folhas jovens (permanecendo essencialmente ao longo das nervuras), seleccionando assim um local para se fixarem e para se alimentarem (Botton *et al.*, 2002).

A reprodução de *P. corni* é realizada essencialmente por partenogénese e uma única fêmea pode colocar até 3000 ovos, sendo que a postura pode ser observada desde fim de Abril até aos finais de Junho (Danzig, 1997). Durante Junho e Julho, os “crawlers” em vinha, dispersam até às folhas e fixam-se preferencialmente ao longo das nervuras das mesmas. Mais tarde, as ninfas migram para os sarmentos onde a hibernação tomará lugar (Marotta, 1997).

Segundo Danzig (1997) e Afonso *et al.* (2004) o desenvolvimento sazonal de *P. corni* depende da posição geográfica e da planta hospedeira, uma vez que esta espécie pode desenvolver uma geração no norte da região Paleártica, mas no sul, pode completar até três gerações. No norte da América alguns autores (Williams & Kosztarab, 1972; Hamon and Williams, 1984) observaram maioritariamente uma única geração de *P. corni*, enquanto na Florida e no sul da Pensilvânia foram observadas duas gerações. Aparentemente, as mudanças em *P. corni* são determinadas pela particular relação desta espécie com a planta hospedeira e com a região geográfica onde se encontra (Danzig, 1997).

Parthenolecanium persicae desenvolve apenas uma geração por ano (Afonso *et al.* 2006). As ninfas de terceiro instar hibernam no tronco ou nos sarmentos das videiras. Afonso *et al.* (2006) observaram fêmeas adultas entre Abril e Maio. A reprodução é normalmente partenogénica e a fecundidade é extremamente elevada (1000-2600 ovos por fêmea), a postura tem início em Maio e prolonga-se até Junho (Afonso *et al.*, 2006). As ninfas de primeiro instar ocorrem desde os finais de Junho, e fixam-se preferencialmente nas nervuras das folhas. Antes das folhas de videira caírem as ninfas migram para os sarmentos de lenha antiga para hibernarem.

O número de instares ninfais de *P. persicae* tem vindo a ser objecto de estudo, ainda controverso. No entanto, a maioria dos autores reconhecem três instares ninfais e uma geração por ano (Afonso *et al.*, 2004

Relativamente aos pseudococcideos, neste caso *P. ficus*, são espécies multivoltinas, em que o número de gerações que completam ao longo de um ano é variável em função da espécie e, dentro da mesma espécie, em função das condições ecológicas de cada região (Franco, 1997).

Na Geórgia, segundo Yasnosh *et al.* (2001), as cochonilhas-algodão completam quatro gerações por ano, sendo que a quarta geração é facultativa. Para Sayed *et al.* (1962) esta espécie apresenta quatro a cinco gerações no Egipto, enquanto na Sicília, Longo *et al.* (1991) verificaram que *P. ficus* completa cinco a seis gerações anuais. Daane *et al.* (2008) assume que esta espécie completa entre quatro a sete gerações por ano na Califórnia. No entanto, Duso (1989) refere que, dependendo das condições climáticas, a espécie pode cumprir três a oito gerações, opinião partilhada por Panis & Trevillot

(1975) que estudaram esta espécie em vinhas na região mediterrânica de França. Por fim, Amaro *et al.* (2004) admitem que *P. ficus* possa completar três a quatro gerações por ano, em Portugal.

Longo *et al.* (1991) referem que a hibernação pode ocorrer sob várias fases de desenvolvimento, Yasnosh *et al.* (2001) realçam que *P. ficus* pode hibernar como fêmea adulta ou como ninfa de qualquer instar. Para Duso (1989) esta espécie hiberna como fêmea adulta, mas para Panis & Trevillot (1975) a hibernação desta espécie dá-se sob a forma de ovos envoltos em filamentos cerosos. Segundo Amaro *et al.* (2004), esta é uma espécie sempre móvel e a hibernação pode ocorrer como ninfa ou fêmea adulta, abrigadas sob o ritidoma da videira, tronco, ramos ou mesmo nas maiores raízes.

De acordo com Longo *et al.* (1991), as fêmeas iniciam a postura no final do inverno (Fevereiro/Março). As ninfas provenientes destes ovos permanecem sob o ritidoma, completando o seu desenvolvimento durante a Primavera. Nesta altura, surgem as fêmeas em postura, que migram para a zona herbácea da planta, dando início à segunda geração. Em Junho surge a terceira geração, seguida de mais duas gerações, que ocorrem de Julho a Setembro (período em que se verifica uma sobreposição de gerações) (Franco *et al.*, 2000). Os insectos procuram localizar-se em zonas onde os valores da temperatura lhes sejam favoráveis, isto é, numa faixa de valores que lhes permitam desenvolver as suas actividades normais (Carvalho, 1986). No outono, com a chegada das primeiras chuvas, verifica-se a migração das fêmeas jovens para a parte basal da planta, onde ficam protegidas (Franco *et al.*, 2000).

3. CARACTERIZAÇÃO DO SISTEMA COCHONILHA – VINHA

3.1. Relações tróficas

3.1.1. Mediação pela melada

Os insectos produtores de melada são essencialmente aqueles que se alimentam de floema da planta hospedeira, absorvendo grandes quantidades deste fluido para satisfazerem as suas necessidades nutritivas (Vranjic, 1997).

A melada, excretada pelos homópteros, contém diversos nutrientes, o que a torna um recurso alimentar para muitos organismos. Além de ser rica em açúcares (e.g., frutose, glucose, sacarose), a sua composição inclui grande diversidade de aminoácidos, amidas, proteínas, minerais e vitamina B (Hagen, 1986; Degen & Gersani 1989; Vranjic, 1997; Paris & Espadaler, 2009). No entanto, a melada contém baixos níveis de azoto solúvel que são necessários á produção de proteínas. Assim o excedente de hidratos de carbono é eliminado do organismo como melada. A seiva constitui uma dieta desequilibrada para as cochonilhas (cochonilhas-lapa e cochonilhas-algodão) uma vez que contém açúcares que estas espécies não são capazes de digerir sendo excretados, na forma de melada. A melada encontra-se, por isso, na origem de diversos tipos de relações tróficas com outros organismos, dos quais se destacam as formigas colhedoras de melada, outros insectos, parasitóides e predadores, artrópodes detritívoros, fungos saprófitas (responsáveis pela fumagina que enegrecem as folhas, cachos e pâmpanos) e entomopatogénios (Franco *et al.*, 2000; Amaro *et al.*, 2004; Vranjic, 1997; Paris & Espadaler, 2009).

3.2.1. Insecto – Inimigos naturais

Para as cochonilhas-lapa o número de estudos realizados sobre parasitóides e predadores que lhes estão associados é consideravelmente menor que para cochonilhas-algodão, apresentando-se alguns resultados encontrados.

Para *Parthenolecanium persicae* (em *Vitis vinífera*), no sudoeste da Alemanha, foi assinalada a associação de *Aphycus timberlakei* (Ishii, 1923) (Hymenoptera: Encyrtidae), *Cheiloneurus formosus* (Boheman, 1852) (Hymenoptera: Encyrtidae), *Coccophagus lycimnia* (Walker, 1839) (Hymenoptera: Aphelinidae), *Coccophagus pulchellus* (Westwood, 1833) (Hymenoptera: Aphelinidae), *Coccophagus scutellaris* (Dalman, 1826) (Hymenoptera: Aphelinidae), *Enchyrtus swederi* (Dalman) (Hymenoptera: Encyrtidae), *Eunotus cretaceus* (Walker, 1834) (Hymenoptera: Pteromalidae), *Eunotus obscurus*

(Masi, 1931) (Hymenoptera: Pteromalidae), *Homalotylus quaylei* (Timberlake, 1919) (Hymenoptera: Encyrtidae), *Metaphycus dispar* (Mercet, 1925) (Hymenoptera: Encyrtidae), *Metaphycus parvus* (Mercet, 1931) (Hymenoptera: Encyrtidae), *Metaphycus punctipes* (Dalman, 1820) (Hymenoptera: Encyrtidae), *Metaphycus maculipennis* (Timberlake, 1916) (Hymenoptera: Encyrtidae), *Microterys sylvius* (Dalman) (Hymenoptera: Encyrtidae), *Trichomastus albimaus* (Thomson, 1876) (Hoffman & Schmutterer, 1999; Stathas *et al.*, 2003). De acordo com Hoffman & Schmutterer (1999), a espécie mais comum em vinha na Alemanha, em *P. persicae*, é o encirtídeo *Blastothrix hungarica* (Hymenoptera: Encyrtidae). Existem dois estudos que relacionam algumas espécies como sendo predadoras de *P. persicae*, tais como *Chilocorus bipustulatus* (Linnaeus, 1758) (Coleoptera: Coccinellidae) e *Leucopis alticeps* (Czerny, 1936) (Diptera: Chamaemyiidae) (Babaev, 1970; Borchsenius, 1957).

Nos ensaios de Stathas *et al.* (2003) as fêmeas adultas de *P. persicae*, que se encontravam parasitadas por duas espécies do género *Metaphycus* apresentaram um nível de 34,5% de parasitismo. No mesmo estudo, a percentagem de ninfas de primeiro e segundo instar atacadas por predadores alcançou uma percentagem de 2,1 %, durante o primeiro ano, e de 1,4 % da população total, durante o segundo ano do ensaio. No entanto, foi assinalado por Stathas *et al.* (2003), que a diminuição de *C. bipustulatus* (considerado um dos predadores de cochonilhas mais importantes na Grécia) pode estar relacionada com o nível de parasitismo de parasitóides himenópteros de *Homalotylus flaminus* (Dalman, 1820) (Hymenoptera: Encyrtidae) (Stathas, 2003).

Relativamente a *P. corni* os estudos do parasitismo associado a esta espécie são muito menos pormenorizados que para a espécie referida anteriormente.

Nos ensaios realizados por Japoshvili *et al.* (2008) os parasitóides mais abundantes em *P. corni* foram *Blastothrix longipennis* (Howard, 1881) (Hymenoptera: Encyrtidae), apresentando 65 % de parasitismo. *C. lycimnia* foi considerada a segunda espécie de parasitóides mais comum, tendo apresentado uma taxa de 38 %. Neste mesmo ensaio foram identificadas as espécies *Pachyneuron muscarum* (Linnaeus, 1758) (Hymenoptera: Pteromalidae) e *Metaphycus insidiosus* (Mercet, 1921) (Hymenoptera: Encyrtidae), em 12,75 % e 4,3 %, respectivamente. Estas espécies de parasitóides, foram consideradas as mais importantes uma vez que surgiram em todos os locais amostrados pelo estudo. No entanto, outras espécies foram identificadas pelos mesmos autores, mas em apenas algumas das vinhas em estudo, nomeadamente *Cheiloneurus claviger* (Thomson, 1876) (Hymenoptera: Encyrtidae), *Trichomastus albimanus* (Thomson, 1876) e *Microterys duplicatus* (Nees, 1834) (Hymenoptera: Encyrtidae).

Para os pseudococcídeos existem diversos estudos que abordam este tema. Têm elevado número de inimigos naturais, sendo conhecidas cerca de 80 espécies de parasitóides himenópteros, englobando quatro famílias e mais de três géneros. A maioria das espécies são encirtídeos (Franco, 1997).

Segundo Yasnosh *et al.* (2001) o complexo de inimigos naturais para *P. ficus* compreende diversas espécies, considerando *Anagyrus pseudococci* (Girault) (Chalcidoidea, Encyrtidae) e *Allotropa mecrida* (Walker, 1835) (Proctotrupoidea: Platygasteridae) como os principais parasitoides de *P. ficus*. os predadores mais relevantes para *P. ficus* são *Nephus* spp. e larvas de *Leucopis alticeps* Czerny (Diptera) (Yasnosh *et al.*, 2001). Yasnosh *et al.* (2001) consideram *P. ficus* como principal hospedeiro de *Anagyrus pseudococci* e Duso (1989) considera este parasitóide como o mais importante em vinhas italianas.

Apesar da diversidade de espécies de predadores e parasitóides e do seu papel na regulação das populações de pseudococcídeos ser considerada importante, os inimigos naturais indígenas não parecem ser, muitas vezes, capazes de impedir que estas cochonilhas atinjam níveis populacionais inaceitáveis do ponto de vista económico (Franco, 1997). A população de cochonilhas atrai auxiliares, nomeadamente coccinelídeos, como *Cryptolaemus montrouzieri* (Mulsant) (Coleoptera: Coccinellidae) no caso da cochonilha-algodão, parasitóides himenópteros e permite, ainda, o desenvolvimento de fungos entomopatogénicos, agentes estes que podem ter acção eficaz na limitação natural da praga (Amaro *et al.*, 2004).

3.3. Formigas

O mutualismo é uma relação interespecífica em que as espécies envolvidas beneficiam com a interacção. Pode ser facultativo, quando a sobrevivência de, pelo menos, uma das espécies não depende da interacção, ou obrigatório, quando as espécies envolvidas dependem uma da outra e não podem sobreviver sem a interacção (Franco, 1997).

As relações que se estabelecem entre formigas e homópteros produtores de melada têm demonstrado ser mutuamente benéficas. Com frequência as formigas fornecem aos homópteros protecção em relação a predadores e parasitóides, a condições ambientais desfavoráveis e à contaminação pela melada. Além disso, os homópteros procurados pelas formigas conseguem ingerir maiores quantidades de seiva a partir do floema e, em consequência, ter maior taxa de assimilação (Degen & Gersani 1989). É importante referir a possibilidade, embora controversa, das formigas funcionarem como agente de dispersão de homópteros (Franco, 1997 e Gullan, 1997).

A principal vantagem para as formigas é terem acesso à melada; no entanto, os cadáveres dos homópteros representam uma potencial fonte proteica, sendo esta outra vantagem (Degen & Gersani, 1989). As observações realizadas por Daane *et al.* (2011) levam o autor a referir que a presença de formigas em vinhas infestadas de cochonilhas reduz a eficácia de parasitóides. Todavia, esta relação dependerá das espécies de formigas presentes e da sua agressividade.

Gullan (1997) afirmam que para os coccídeos, a presença de formigas pode ser benéfica de uma ou mais formas. A remoção de melada, pelas formigas, aumenta as condições de saneamento na zona onde se encontram os agregados de cochonilhas, reduzindo assim a contaminação das cochonilhas causada pelos excrementos açucarados e diminuindo as probabilidades de aparecimento de fumagina que se desenvolve sobre a melada (Flandres, 1951; Gullan, 1997; Das, 1959). Segundo Charles (1982), um dos maiores estragos causados pelas cochonilhas, está associado à presença de fumagina. O mesmo autor refere que se não fosse pela fumagina que se desenvolve sobre a melada excretada pelas cochonilhas, estas nem seriam consideradas como pragas.

Se as formigas forem retiradas, os coccídeos podem ficar presos na sua própria melada, podendo mesmo vir a morrer. Estes estudos são ainda equívocos, não se sabendo se esta morte resulta da asfixia ou se resulta dos efeitos do fungo (vulgarmente conhecido como fumagina) que se desenvolve, normalmente, sobre a melada (Gullan, 1997).

3.4. Estragos e prejuízos associados a cochonilhas

Em semelhança a outros hemípteros, estas espécies são transmissoras de vírus, devido ao seu tipo de alimentação. Todos os hemípteros que apresentam armadura bucal do tipo picador-sugador pertencem ao guilda dos insectos sugadores, de acordo com a classificação proposta por Romoser & Stoffolano (1998).

A importância das cochonilhas, tanto das cochonilhas-algodão como das cochonilhas-lapa, está directa e indirectamente associada à sua actividade alimentar. O processo da alimentação e a espoliação de seiva reflectem na planta os efeitos directos da alimentação, podendo estar na origem de alterações fisiológicas, podendo ser manifestados através dos órgãos afectados ou mesmo na videira em si, perdendo vigor e tornando-se mais fraca (Silva, 2000).

Em geral as cochonilhas preferem as brotações novas para se fixarem e para se alimentarem (Afonso *et al.*, 2004; Vranjic, 1997). Vranjic (1997) classifica os estragos causados por esta praga como directos ou indirectos. A componente directa está associada à destruição dos tecidos vasculares e

fotossintéticos das plantas causado pela penetração (dos estiletes) das armaduras bucal. Estes estragos resultam na destruição dos cloroplastos e, consequentemente, na descoloração da região de alimentação assim como na redução da área fotossintética funcional. A presença das cochonilhas-lapa na vinha também está relacionada com remoção das reservas nutritivas da planta necessárias ao seu desenvolvimento (estragos associados à remoção de floema) (Vranjic, 1997).

Os estragos indirectos nas plantas hospedeiras estão associados à contaminação da superfície da planta com fumagina e melada, libertada pela cochonilha-lapa (Vranjic, 1997).

Em paralelo aos efeitos directos causados na planta hospedeira, o crescimento das plantas pode também ser afectado pela produção de melada. Os compostos presentes na melada são favoráveis ao desenvolvimento da fumagina, responsável pela desagradável aparência enegrecida das folhas e cachos depreciando o valor comercial da uva (Fig. 1) (Vranjic, 1997; Afonso et al., 2006).



Figura 1. Exemplo de cacho (da casta Syrah) coberto de fumagina resultante do depósito de melada por *Parthenolecanium corni* (Bouché) (Hemiptera: Coccidae) (Original de Manuel Botelho).

A saliva injectada por algumas espécies pode ser tóxica, para além de que a armadura bucal pode estar envolvida na transmissão de doenças (Romoser & Stoffolano, 1998). A possibilidade de transmissão de vírus durante a alimentação constitui, igualmente, estrago de natureza indirecta resultante da actividade alimentar, uma vez que pode causar elevados prejuízos (Silva, 2000). A fumagina, normalmente, compreende uma complexa diversidade de fungos, todas saprófitas. O vírus do enrolamento da videira (Grape leafroll vírus - GLRaV) ocorre em quase todas as zonas vitivinícolas do mundo. Segundo Fuchs *et al.* (2009), estes vírus pertencem ao género Closterovirus (GLRaV-2) e

Ampelovirus (GLRaV-1, GLRaV-3, GLRaV-4, GLRaV-5, GLRaV-6, GLRaV-9 e GLRaV-10). As consequências da doença do enrolamento da videira associada a este vírus, estão relacionadas com perdas de produção significativas e aumento da acidez titulável do mosto (Bertin *et al.*, 2010; Sforza *et al.*, 2003).

Todos os GLRaVs são facilmente transmitidos por propagação e por enxerto, sendo que alguns deles (i. e., GLRaV-1, GLRaV-3, GLRaV-5 e GLRaV-9) são também vectorizados por várias espécies de cochonilhas-algodão e de cochonilhas-lapa (Martelli & Boudon-Padien, 2006). Fuchs *et al.* (2009) referem que *P. corni*, e *P. ficus* são vectores de transmissão de GLRaV, sendo que os seus resultados mostraram que existe uma “associação preferencial” entre as cochonilhas-lapa e GLRaV-1, e uma associação com menor nível preferencial, entre as cochonilhas-algodão e GLRaV-3. Sforza *et al.* (2003) apresentam resultados de acordo com esta “associação” entre *P. corni* e GLRaV-1.

As cochonilhas, em geral, são capazes de transmitir os vírus de uva para uva (Tanne *et al.* 1989; Belli *et al.*, 1994) e para plantas herbáceas (Roscioglone & Castellano, 1985; Garau *et al.*, 1995). No entanto, *P. persicae* não foi, ainda, referenciada como vector de transmissão destes vírus (Bertin *et al.*, 2010).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo apresenta-se a descrição dos ensaios, de campo e de laboratório, realizados, durante o ciclo vegetativo de 2012, no âmbito do presente trabalho.

4.2. Identificação de espécies

4.2.1. Preparações microscópicas das cochonilhas

Algumas das fêmeas de cochonilhas-lapas e cochonilhas-algodão, colhidas nas parcelas em estudo, assim como as fêmeas obtidas em laboratório por infestação artificial de videiras com ovos colhidos nas mesmas parcelas, foram sujeitas aos procedimentos de preparação necessários para obter preparações microscópicas de modo a permitirem confirmar as espécies presentes.

Para o efeito, utilizaram-se os métodos de Ben-Dov & Hodgson (1997), para coccídeos (Anexo I), e pelo Laboratório de Bioecologia de Pragas e Auxiliares do Departamento de Ciências e Engenharia de Biosistemas do Instituto Superior de Agronomia/Universidade Técnica de Lisboa, para pseudococcídeos (Anexo II), respectivamente para as cochonilhas-lapa e cochonilhas-algodão. O método proposto por Ben-Dov & Hodgson (1997) foi alterado no que respeita ao tempo de permanência em solução de hidróxido de potássio (KOH), de uma para duas e três semanas, para maior eficácia de diafanização do escudo das cochonilhas-lapa.

Adaptaram-se alguns parâmetros do protocolo sugerido por Ben-Dov & Hodgson (1997), consoante o material recolhido e as condições laboratoriais, uma vez que o material recolhido em campo foi mantido a seco. Tal facto mostrou ser importante, na medida em que material intensamente esclerotizado se torna impossível de preparar para observação microscópica sem danificar. Sendo que os autores referem que espécimes demasiado esclerotizados podem ser mantidos em solução de KOH fria, durante pelo menos uma semana, mantiveram-se estes exemplares em solução de conservação (4 porções de álcool etílico 96%: 1 porção de ácido acético glacial), durante 24h, e posteriormente, durante 3 semanas em solução de KOH para que fosse possível o seu manuseamento para a realização das preparações microscópicas.

4.2.2. Identificação sistemática

A identificação sistemática das cochonilhas-algodão foi baseada em Williams & Watson (1990) e das cochonilhas-lapa em Ben-Dov & Hodgson (1997). A designação das espécies foi confirmada pelo Professor José Carlos Franco (ISA/UTL).

Os exemplares de formigas foram identificados pela Engenheira Vera Zina (ISA/UTL), com base em Collingwood & Prince (1998).

Os exemplares de parasitóides foram identificados pelo Dr. George Jaspshvil (Entomology and Biocontrol Research Centre/Agriculture University of Georgia).

4.3. Ensaio de laboratório

O presente ensaio foi conduzido no período de Junho a Outubro de 2012, utilizando no total oito videiras envasadas, quatro da casta Aragonez e quatro da casta Syrah. As videiras foram mantidas em condições de laboratório (LBPA/DCEB/ISA) ($22,0^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, $60,0\% \pm 0,5\%$ r.h.)

Os exemplares utilizados de cochonilha-lapa (fêmeas com postura), *P. corni*, foram colhidos nas parcelas das Quinta do Gradil (25 de Maio e 22 de Junho) e Quinta do Côro (20 de Julho). Para que fosse possível acompanhar o ciclo de vida e a morfologia das cochonilhas-lapa procedeu-se a um método semelhante ao descrito por Afonso *et al.* (2006). Assim, para que as ninfas se instalassem com sucesso nas videiras, colocou-se cada fêmea em postura no interior do escudo, individualmente, presa com a ajuda de um alfinete em algodão, humedecido com água, em volta de cada sarmento basal (com objectivo de criar local de suporte) (Fig. 2). No total, foram acompanhados 3 exemplares de ninfas de *P. corni*, pelo método de infestação artificial em condições de laboratório.

Foi efectuada observação regular, com recurso a microscópio estereoscópico (10-70X de ampliação), com periodicidade de cerca de 12 dias, das ninfas que conseguiram instalar-se, as quais foram identificadas com linhas de diferentes cores. Em cada observação, foi realizado registo fotográfico a cada ninfa para se proceder posteriormente à caracterização da morfologia externa e à determinação das dimensões dos diferentes instares da espécie de cochonilhas-lapa em análise.

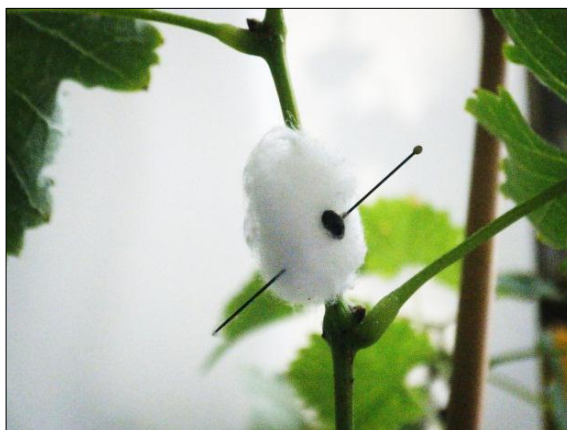


Figura 2. Método de colocação de fêmea de cochonilhas-lapa, *Parthenoleacanium corni* (Bouché) (Hemiptera: Coccidae) com postura em *Vitis vinifera*.L. (original do autor).

4.4. Ensaios de campo

4.4.1. Caracterização das parcelas

Os ensaios de campo foram realizados em duas vinhas, Quinta do Gradil (parcelas nº 5 e 13) e Quinta do Côro (Quadro 1), enquadrados no âmbito do Projecto FERTILPODA (Fig. 3). A Quinta do Côro e a parcela 5 da Quinta do Gradil apresentam-se sujeitas a cinco modalidades de fertilizantes (i.e., ESTR – estrume de bovino, RSUC – resíduos sólidos urbanos compostados, ETAR – lamas de ETAR estação de tratamentos de águas residuais, BIOC – Biocarvão (carvão vegetal), e TEST – testemunha, sem aplicação de matéria orgânica) e duas modalidades de poda (i.e., poda manual e poda mecânica; a poda mecânica é corrigida manualmente de dois em dois anos, sendo que no presente ano não sofreu qualquer correcção manual), desde início do ciclo vegetativo de 2012 (Anexo III). A parcela 13 da Quinta do Gradil apresentou-se sujeita, apenas, às duas modalidades de poda (Anexo IV). Nestas parcelas não foram realizados tratamentos fitossanitários com acção tóxica em cochonilhas (Anexo V). As duas regiões onde estão implantadas as vinhas das parcelas em estudo diferem na constituição dos solos, uma vez que a Quinta do Côro (região do Tejo) apresenta um solo argiloso, enquanto a Quinta do Gradil (região de Lisboa) apresenta um solo com características areno-franco-argilosas e com elevada capacidade de retenção de água. Ainda, em relação aos solos das vinhas onde se encontram as parcelas, ambos eram pobres no que respeita ao teor em matéria orgânica antes do início do projecto. Durante o ciclo vegetativo de 2012 a região de Lisboa (Cadaval) revelou-se mais quente e mais chuvosa que a região do Tejo (Sardoal) (Anexos VI e VII). Para uma maior uniformização dos resultados, os ensaios do projecto FERTILPODA incidem na casta Syrah, comportando poda manual e poda mecânica em sebe, conjugado com a aplicação de diferentes fontes de matéria orgânica.

Quadro 1. Principais características das parcelas de vinha no estudo de avaliação dos efeitos de poda e fertilização na intensidade populacional de espécies de cochonilhas associadas.

Quinta	Localização	Ano de plantação	Casta/porta-enxerto	Densidade (plantas/ha)	Área (ha)	Tipo de poda	Sistema de condução	Compasso (m x m)
Gradil (parcela 5)	Vilar (Cadaval)	2005	Syrah (140 Ru)	3846	5,92	Cordão <i>Royat</i> unilateral	Monoplano vertical ascendente	2,6 x 1
Gradil (parcela 13)	Vilar (Cadaval)	2001	Aragonez (1103 P)	3846	1,5	Cordão <i>Royat</i> unilateral	Monoplano vertical ascendente	2,6 x 1
Côro	Sardoal (Sardoal)	1999	Syrah (99R)	4000	1	Cordão <i>Royat</i> bilateral	Monoplano vertical ascendente	2,5 x 1



Figura 3. Parcelas do ensaio no estudo de avaliação dos efeitos de poda e fertilização na intensidade populacional de espécies de cochonilhas associadas. **A)** Quinta do Côro (Sardoal); **B)** Quinta do Gradil (Cadaval) (originais de Manuel Botelho).

4.4.2. Dispositivo experimental

No caso do ensaio exclusivo de poda, Quinta do Gradil, com historial de cochonilha-lapa, foi detectada a presença generalizada de fêmeas adultas de *P. corni* logo na primeira observação, realizada a 26 de Abril. Dado o tipo de modalidade em ensaio nesta parcela, instalada desde há cinco anos, esta situação foi aproveitada para analisar o efeito da poda mecânica (e.g., maior vigor vegetativo, microclima com maior humidade relativa) *versus* manual (e.g., menor vigor vegetativo, microclima com menor humidade relativa), na intensidade de ataque de *P. corni*. Nestas circunstâncias, optou-se por quantificar o número de indivíduos por cada estado de desenvolvimento, de cada uma das espécies de cochonilhas (i.e., cochonilhas-lapa, cochonilhas-algodão), ao acaso, presentes em 5 cm de sarmento, medidos a partir do cordão (ficha de registo em Anexo VIII). Foram observados quatro sarmentos por cepa, em 30 cepas por modalidade de poda (manual e mecânica), num total de 120 sarmentos por modalidade (240 no total).

Em cada uma das duas parcelas sujeitas às modalidades de fertilização e de poda (ensaio FERTILPODA), foram observadas 60 cepas, ao acaso, distribuídas pelas diferentes repetições das cinco modalidades em estudo (i.e., 3 cepas/modalidade de fertilização, ou seja 30 cepas/modalidade de poda), tendo-se registado a presença de cochonilhas-algodão e cochonilhas-lapa (e.g., posturas, ninfas, fêmeas adultas) ou de qualquer um dos seus vestígios (e.g., melada, formigas, escudo de fêmeas mortas). Na parcela da Quinta do Côro, após a 2ª observação, realizada a 20 de Julho, devido à presença de apenas algumas cepas infestadas com as espécies *P. ficus* e *P. corni*, sendo que a maioria apresentava-se sem qualquer infestação, optou-se por registar, igualmente, a intensidade de ataque.

Em cada uma das observações realizadas às parcelas, foram recolhidos sarmentos com cochonilhas-lapa e cochonilhas-algodão, tendo-se procedido à sua separação por espécie e acondicionamento em caixas apropriadas, em condições de laboratório, que permitissem obter emergências de parasitóides.

As observações nas duas quintas nem sempre foram realizadas nos mesmos dias. De seguida apresenta-se um quadro com o registo de periodicidade das observações de acordo com as duas parcelas (Quadro 2).

Quadro 2. Datas de observação e registos realizados nos ensaios do estudo de avaliação dos efeitos de poda e fertilização na intensidade populacional de espécies de cochonilhas associadas, na Quinta do Gradil (Cadaval) e na Quinta do Côro (Sardoal).

Data	Parcelas observadas
26 de Abril	Qta do Gradil e Qta do Côro
25 de Maio	Qta do Gradil
22 de Junho	Qta do Gradil
20 de Julho	Qta do Gradil e Qta do Côro
9 de Agosto	Qta do Gradil e Qta do Côro
9 de Novembro	Qta do Gradil* e Qta do Côro

*Observação apenas da parcela de ensaio de poda.

4.5. Análise estatística

Relativamente aos ensaios de Poda vs Fertilização, o número de indivíduos (i.e., 1º instar, 2º instar, 3º instar, fêmeas, fêmeas em postura e total) de *P. corni* foram submetidos a análise de variância (ANOVA), separadamente para cada parcela e modalidade de Poda e de Fertilização. De seguida, foi usado o teste de comparação de médias *à posteriori* Tukey HSD para determinar as diferenças entre os níveis de tratamento. Cada modalidade foi analisada separadamente.

Para efectuar a comparação conjunta dos factores Poda e Fertilização foi efectuada a análise do Modelo Linear Generalizado, de acordo com o desenho Poda + Fertilização + Poda*Fertilização.

Em relação ao ensaio de Poda, o número de indivíduos (i.e., 1º instar, 2º instar, 3º instar, fêmeas, fêmeas em postura e total) de *P. corni*, foram submetidos a análise de variância ANOVA, separadamente para cada data de observação. Posteriormente, foi usado o teste de comparação de médias *à posteriori* Tukey HSD para determinar as diferenças entre os dois níveis de tratamento. As dimensões (i.e., comprimento e largura) das cochinilhas *P. corni*, mantidas em laboratório, foram sujeitas a análise de variância (ANOVA) e comparação de médias *à posteriori* pelo teste Tukey HSD, em separado para cada dimensão.

Os dados são apresentados como média \pm erro padrão. O nível de significância foi assinalado como $\alpha = 0,05$. Todas as análises foram realizadas com recurso ao programa IBM SPSS statistics 21,0 para o Windows (Inc. Chicago, EUA).

5. RESULTADOS

5.2. Identificação de espécies

Os exemplares de cochonilhas-algodão foram identificadas como *Planococcus ficus* (Signoret, 1875) (Hemiptera: Pseudococcidae) (Fig. 4A), e os exemplares de cochonilhas-lapa foram identificados como *Parthenolecanium corni* (Bouché, 1844) (Hemiptera: Coccidae) (Fig. 4B).



Figura 4. Fêmeas de cochonilhas-algodão e cochonilhas-lapa (A e B, respectivamente), recolhidas na Quinta do Gradil (Cadaval) e na Quinta do Côro (Sardoal): A) *Planococcus ficus*; B) *Parthenolecanium corni* (originais do autor).

Coccophagus lycimnia (Walker, 1839) (Hymenoptera: Aphelinidae) e *Metaphycus dispar* (Mercet, 1925) (Hymenoptera: Encyrtidae) (Figs. 5A e 5B, respectivamente) foram identificados como parasitóides associados a *P. corni*.

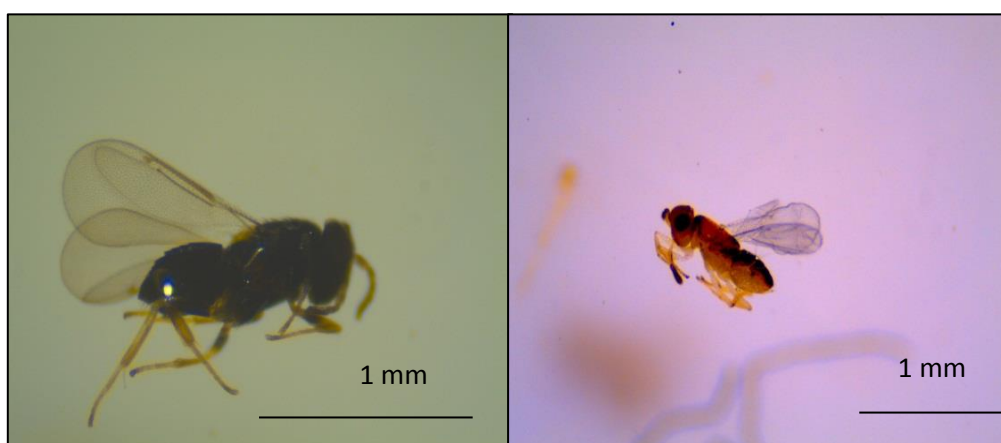


Figura 5. Parasitóides associados a *Parthenolecanium corni* recolhidos na Quinta do Gradil (Cadaval) A) *Coccophagus lycimnia* (original de Vera Zina); B) *Metaphycus dispar* (original do autor).

A Fig. 6 apresenta *Parthenolecanium corni* (Bouché, 1844) (Hemiptera: Coccidae) e *Planococcus ficus* (Signoret, 1875) (Hemiptera: Pseudococcidae) parasitadas (A e B, respectivamente).

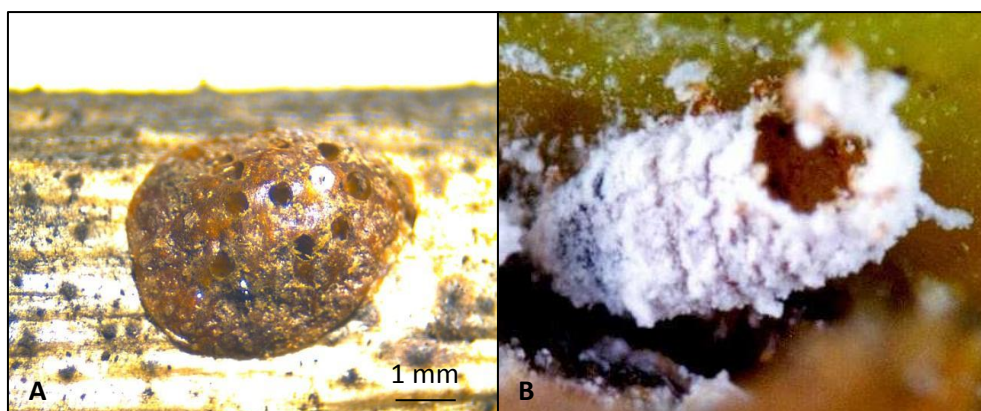


Figura 6. **A)** Fêmea morta de *Parthenolecanium corni* parasitada, em vinha, na Quinta do Gradil (Cadaval). (original do autor); **B)** Fêmea de *Planococcus ficus* parasitada por *Anagyrus* sp. near *pseudococci* (original de Elsa Silva).

A partir do material mantido em laboratório foi possível recolher igualmente, parasitóides associados a *Planococcus ficus*, nomeadamente as espécies *Leptomastidea abnormis* (Girault, 1915) (Hymenoptera: Encyrtidae) e *Anagyrus* sp. near *pseudococci* (Girault, 1915) (Hymenoptera: Encyrtidae) (Fig. 7).

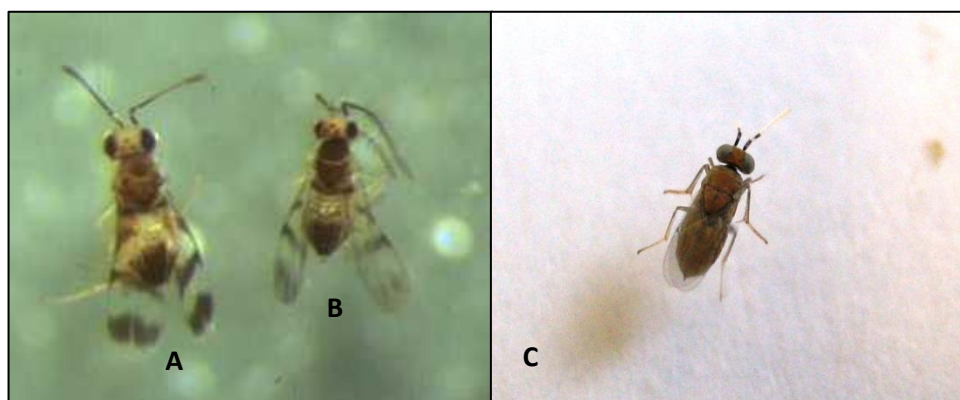


Figura 7. Imagem de parasitóides associados a *Planococcus ficus*: **A)** fêmea de *Leptomastidea abnormis*; **B)** macho de *Leptomastidea abnormis*; **C)** *Anagyrus* sp. near *pseudococci* (originais de Elsa Silva).

Os exemplares de formigas recolhidas, em ambas as parcelas, foram identificados como *Linepithema humile* (Mayr, 1868) (Hymenoptera: Formicidae) (Fig. 8).



Figura 8. Formiga Argentina, *Linepithema humile* associada a *Parthenolecanium corni*, em vinha, Quinta do Gradil (Cadaval) (original de Vera Zina).

5.3. Ensaios de laboratório

No caso dos indivíduos que se fixaram nas videiras envasadas (Quadro 3), o número de amostras foi variável, de acordo com o que foi possível executar, uma vez que não havia forma de determinar quantos indivíduos iriam emergir, onde e quando se fixariam.

Os resultados obtidos relativos ao comprimento (geral, sem diferenciação de estados de desenvolvimento) demonstraram diferenças significativas entre os exemplares de cochonilhas-lapa da Quinta do Gradil e da Quinta do Côro ($F_{1,73} = 4,25$ $p < 0,043$). Relativamente à análise da largura, não foram evidenciadas diferenças significativas ($F_{1,73} = 0,824$ $p > 0,37$), entre os exemplares com origem nas duas parcelas em análise.

A mesma análise foi aplicada separadamente para cada um dos estados de desenvolvimento. Esta análise demonstrou diferenças significativas apenas nas dimensões de comprimento entre fêmeas adultas ($F_{1,18} = 3,30$ $p < 0,087$). As dimensões de largura não demonstraram diferenças significativas ($F_{1,18} = 1,66$ $p > 0,22$) entre os estados de desenvolvimento. Os restantes instares ninfais não apresentaram diferenças significativas nos valores de comprimento e de largura, quer para ninfas de segundo instar (comprimento $F_{1,29} = 0,96$ $p > 0,334$, e largura $F_{1,29} = 0,204$ $p > 0,66$), quer para ninfas de terceiro instar (comprimento $F_{1,4} = 0,03$ $p > 0,89$, e largura $F_{1,4} = 0,29$ $p > 0,63$).

No Quadro 3 encontram-se os valores obtidos relativos às dimensões de *P. corni*, e no Quadro 4 encontram-se os valores encontrados em bibliografia, referentes às dimensões de a *P. corni* e *P. persicae*.

Quadro 3. Dimensões médias de largura e comprimento (mm) (\pm erro padrão) por instar de desenvolvimento de *Parthenolecanium corni*, em videiras envasadas de Aragonez e Syrah.

		Quinta do Gradil	N	Quinta do Côro	N
1º Instar	Comprimento (mm)	0,39 ($\pm 0,03$)	20	-	-
	Largura (mm)	0,19 ($\pm 0,01$)	20	-	-
2º Instar	Comprimento (mm)	1,47 ($\pm 0,13$)	15	1,99 ($\pm 0,52$)	15
	Largura (mm)	0,69 ($\pm 0,07$)	15	0,76 ($\pm 0,15$)	15
3º Instar	Comprimento (mm))	3,53 ($\pm 0,64$)	2	3,43 ($\pm 0,38$)	3
	Largura (mm)	2,03 ($\pm 0,50$)	2	1,72 ($\pm 0,36$)	3
Fêmea adulta	Comprimento (mm)	3,71 ($\pm 0,19$)	15	4,51 ($\pm 0,46$)	4
	Largura (mm)	2,36 ($\pm 0,16$)	15	2,78 ($\pm 0,25$)	4

Quadro 4. Dimensões médias de largura e comprimento (mm) (\pm erro padrão) por instar de desenvolvimento de *Parthenolecanium corni* (por Brittin (1939) e por Hodgson (1994) e de *Parthenolecanium persicae*, por Santas (1985).

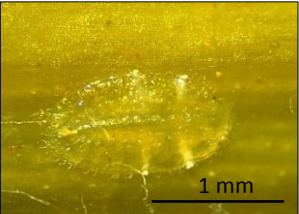

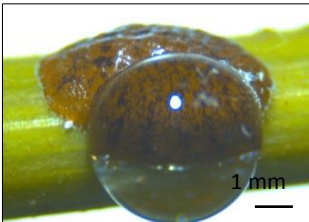


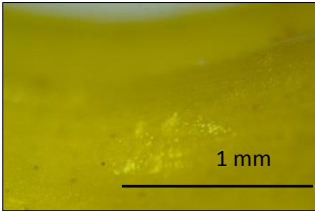
		<i>P. persicae</i> (Brittin, 1939; Santas, 1985)	<i>P. corni</i> (Hodgson, 1994)
1º Instar	Comprimento (mm)	0,34	-
	Largura (mm)	0,18	-
2º Instar	Comprimento (mm)	1,04	-
	Largura (mm)	0,37	-
3º Instar	Comprimento (mm)	1,10 a 1,48	-
	Largura (mm)	0,60 a 0,82	-
Fêmea adulta	Comprimento (mm)	2,34 a 5	1 a 4,3
	Largura (mm)	1,87 a 2,88	0,7 a 3

Pela análise do Quadro 5 é possível observar que os exemplares de *P. corni*, provenientes da Quinta do Gradil, completaram, em condições de laboratório, uma geração. No entanto, verificou-se o início de uma segunda geração, que não foi possível acompanhar devido a uma infestação (não controlada) de cochonilhas-algodão, *P. ficus*, nas videiras envasadas. Esta infestação levou à produção excessiva de melada e tornou impossível a sobrevivência de ninfas de primeiro instar de *P. corni*.

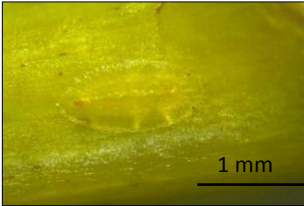
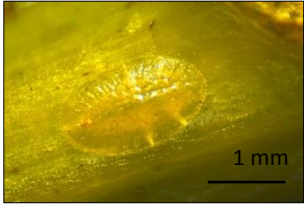
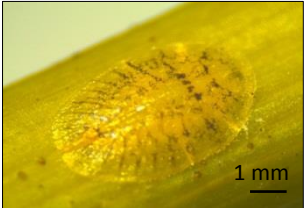


Mediante a observação da morfologia externa (e. g., forma e grau de esclerotização do corpo), a primeira muda deverá ter ocorrido ao final de 10 dias, depois de se fixarem as cochonilhas-lapa nas videiras envasadas. Ainda no mês de Julho, a muda para segundo instar deve ter ocorrido 9 dias depois, e a muda para terceiro instar, deve ter ocorrido, também, após 9 dias. A muda para a fase de adulto deve ter-se dado cerca de 11 dias mais tarde. Nas semanas seguintes (aproximadamente 19 dias), verificou-se o início de postura da fêmea. Foram observadas ninfas de primeiro instar, no final do mês de Agosto, e de segundo instar em Setembro.

Relativamente aos exemplares originários da Quinta do Côro (Quadro 6), a primeira recolha de material foi realizada mais tarde que a da Quinta do Gradil (20 de Julho). Entre a recolha de material e a observação de ninfas de primeiro instar, em laboratório, passaram 20 dias. A observação de ninfas de segundo instar deverá ter ocorrido ao final de 25 dias e a muda para o terceiro instar ninfal 7 dias depois. A muda para fêmea adulta deverá ter ocorrido após 6 dias.

Quadro 5. Registo fotográfico do ciclo de vida de cochonilha-lapa, *Parthenolecanium corni* em videiras envasadas (*Vitis vinifera* L.), Syrah e Aragonez, efectuado em laboratório no período de Julho a Setembro de 2012, a partir de posturas obtidas na Quinta do Gradil (Cadaval) (originais do autor).

Geração	Data de Observação	Imagem	Legenda
1ª Geração	02 de Julho		Ninfa de primeiro instar, ampliação de 70X
	11 de Julho		Ninfa de segundo instar, ampliação de 70X
	20 de Julho		Ninfa de terceiro instar, ampliação de 20X
	31 de Julho		Fêmea em postura, ampliação de 20X
			Fêmea morta e "crawlers", ampliação de 20X
2ª Geração	29 de Agosto		Ninfa de primeiro instar, ampliação de 70X

Quadro 6. Registo Fotográfico do ciclo de vida de cochonilha-lapa, *Parthenolecanium corni*, em videiras envasadas (*Vitis vinifera* L.), Syrah e Aragonez, efectuado em laboratório no período de Julho a Setembro de 2012, a partir de posturas obtidas na Quinta do Côro (Sardoal) (originais do autor).

Geração	Data de Observação	Imagem	Legenda
1ª Geração	29 de Agosto		Ninfa de primeiro instar, ampliação de 70X
	3 de Setembro		Ninfa de segundo instar, ampliação de 70X
	10 de Setembro		Ninfa de terceiro instar, ampliação de 25X
	25 de Setembro		Fêmea em postura, ampliação de 15X
	4 de Outubro		Fêmea em postura, ampliação de 10X

As observações realizadas em laboratório permitiram identificar algumas características taxonómicas da espécie de cochonilhas-lapa em estudo, *P. corni*. Assim, com base nessas observações e em descrições realizadas por Hodgson (1997), descrevem-se, de seguida, as principais características de cada estado de desenvolvimento desta espécie.

Os ovos são ovais, translúcidos amarelados e muitas vezes é possível observar os olhos (Fig. 9 B).

As ninfas de primeiro instar ou “*crawlers*” (Fig. 9 C) são a fase de desenvolvimento mais activa e representam o instar de maior dispersão. Nesta fase, o corpo apresenta forma oval de cor translúcida amarelada. No primeiro instar as ninfas apresentam as mesmas características e, por isso, os sexos são indistinguíveis. A cabeça, tórax e abdómen apresentam-se fundidos e os discos anais com sedas apicais longas são facilmente identificados. Nas ninfas de primeiro instar os olhos são bem notórios e as patas e as antenas encontram-se bem desenvolvidas, em comparação com a dimensão do corpo.

No entanto, as ninfas de macho e de fêmea são, ainda, muito semelhantes. A forma do corpo de ninfas de segundo instar (Fig. 9 D) é oval mas mais redonda que no instar anterior. Durante o período do ensaio, os olhos podem observar-se na margem lateral da cabeça, os discos anais encontram-se ainda bem desenvolvidos, mas já sem as sedas apicais alongadas. A segmentação encontra-se mais desenvolvida nesta fase e a fenda anal é bastante visível. Após a primeira muda, notam-se algumas alterações na coloração, tornando-se cada vez menos translúcidas, e mais escuras.

A aparência das fêmeas observadas no terceiro instar imaturo (Fig. 9 E) é muito semelhante à fase de adulto, e, por isso, pode ser facilmente confundido ou negligenciado com as fêmeas jovens adultas se não for examinado microscopicamente. O terceiro instar é intermédio entre ninfas de segundo instar e as fêmeas adultas, e distingue-se de cada uma dessas fases através do número de estruturas dérmicas. As ninfas de terceiro instar apresentam um maior número de estruturas dérmicas que o segundo instar e menor que o adulto. O tamanho das ninfas de terceiro instar também se nota ligeiramente superior ao das ninfas de segundo instar.

Na fase de fêmea adulta (Fig. 9 F), a maioria das classificações para as cochonilhas-lapa são realizadas, quase exclusivamente, com base nas características externas. A forma do corpo das fêmeas adultas pode variar, consideravelmente, dependendo se se alimentam nas folhas, nos sarmentos ou no tronco; e a planta hospedeira também pode induzir variações morfológicas nas cochonilhas-lapa.

A forma destas espécies é normalmente apresentada como amplamente oval, circular ou periforme. Nas fêmeas a cabeça, tórax e abdómen encontram-se fundidos e, em geral, os membros da família Coccidae encontram-se providos de dois discos anais, localizados na base da fenda anal.

Foi possível diferenciar os instares de desenvolvimento de *P. corni* sobretudo pelo tamanho e forma, a qual se vai tornando menos oval e mais redonda. Estruturas como antenas, patas e sedas apicais visíveis (com ampliações de 50 e 70 X) que são característicos de apenas alguns instares, foram também elementos de identificação de instares. A cor dos exemplares também é um parâmetro que permitiu assinalar diferenças entre instares, uma vez que as ninfas de primeiro instar assumem a cor do substrato e conforme se desenvolvem, a sua cor muda para mais escura, até que em fêmea adulta apresentam uma coloração castanha avermelhada e brilhante. O grau de esclerotização aumenta com o desenvolvimento, tornando-se mais evidente quando as fêmeas iniciam a postura. Como forma de protecção dos ovos, mesmo depois de mortas, as fêmeas apresentam o escudo seco, completamente esclerotizado e fixo à planta hospedeira.

As ninfas observadas apresentaram sempre morfologia semelhante e compatível com a forma apenas de fêmea, uma vez que os machos deveriam apresentar uma fisiologia mais estreita e alongada, assim como os segmentos da cabeça, tórax e abdómen deveriam mostrar-se distintos uns dos outros (Danzig, 1997; Williams, 1997). Também não se registou a existência de formas resultantes da metamorfose completas, como pré-pupa e pupa.

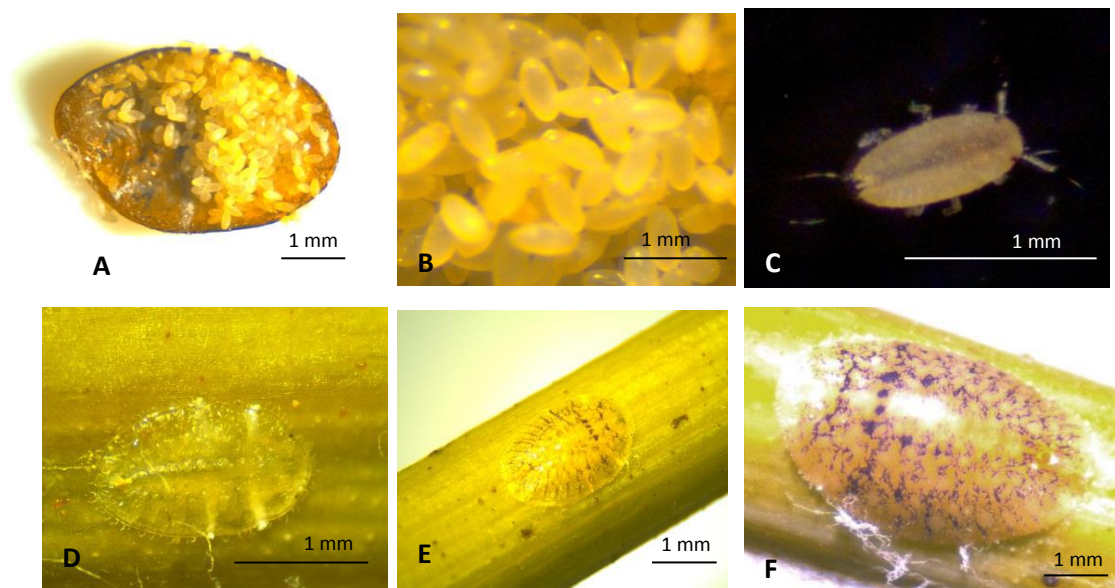


Figura 9. Fases de desenvolvimento das cochonilhas-lapa. Fêmeas de *Parthenolecanium corni*: **A)** escudo de fêmea em postura; **B)** interior de fêmea em postura; **C)** ninfa de primeiro instar ou “crawler”; **D)** Ninfa de segundo instar; **E)** ninfa de terceiro instar; **F)** jovem fêmea adulta; em videira envasada Syrah e Aragonez, no período de Junho a Outubro (originais do autor).

5.4. Ensaio de campo

Os resultados apresentados neste ponto encontram-se separados por modalidades intervenientes nas parcelas. Assim, apresentam-se inicialmente os resultados obtidos na parcela com as modalidades exclusivamente de poda (manual e mecânica) (5.4.1.) e posteriormente os resultados obtidos nas parcelas dos ensaios FERTILPODA, tendo em conta as modalidades de fertilização e de poda (5.4.2.)

5.4.1. Ensaio de poda

Na parcela do ensaio exclusivamente de poda (instalada desde há cinco anos), os valores médios da presença de indivíduos na modalidade de poda mecânica foram superiores aos valores médios de indivíduos na modalidade de poda manual. Sendo que a parcela de poda mecânica apresentou um total de 833 exemplares, enquanto na parcela de poda manual foi contabilizado um total de 188 indivíduos, para a totalidade do período de observações (Fig. 10).

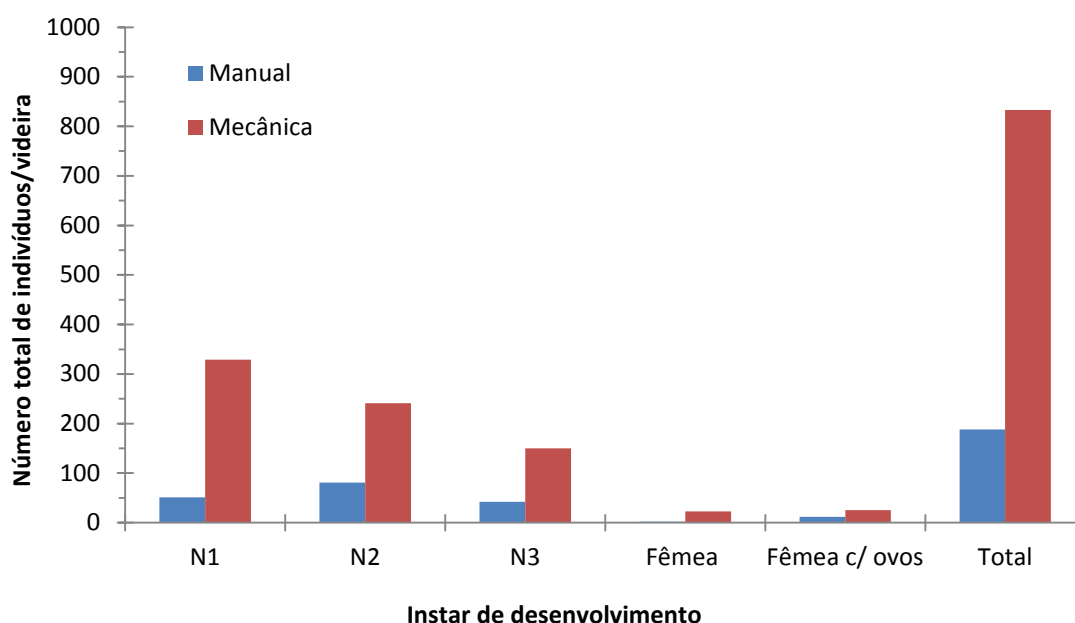


Figura 10. Número total de indivíduos de *Parthenolecanium corni*, por estado de desenvolvimento (N1=ninfa de 1º instar, N2=ninfa de 2º instar e N3=ninfa de 3º instar) em cada modalidade de poda (manual e mecânica), na parcela de ensaio de poda da Quinta do Gradil (Cadaval).

A análise de efeito das modalidades de poda sobre a presença do número médio de indivíduos (\pm desvio padrão), nas condições em que foi realizado o ensaio, evidenciou diferenças significativas entre as modalidades de poda, sendo que a poda manual apresentou valores significativamente inferiores à poda mecânica ($F_{1,1200} = 70,21$; $p < 0,001$). Na Fig. 11 é possível observar-se que o número médio de indivíduos, nas diferentes fases de desenvolvimento das cochonilhas-lapa, é significativamente superior na modalidade de poda mecânica, nomeadamente para ninfas de primeiro instar ($F_{1,1200} = 43,37$; $p < 0,001$), ninfas de segundo instar ($F_{1,1200} = 17,72$; $p < 0,001$), ninfas de terceiro instar ($F_{1,1200} = 13,37$; $p < 0,001$), fêmeas ($F_{1,1200} = 18,26$; $p < 0,001$) e fêmeas com postura ($F_{1,1200} = 4,72$; $p < 0,001$).

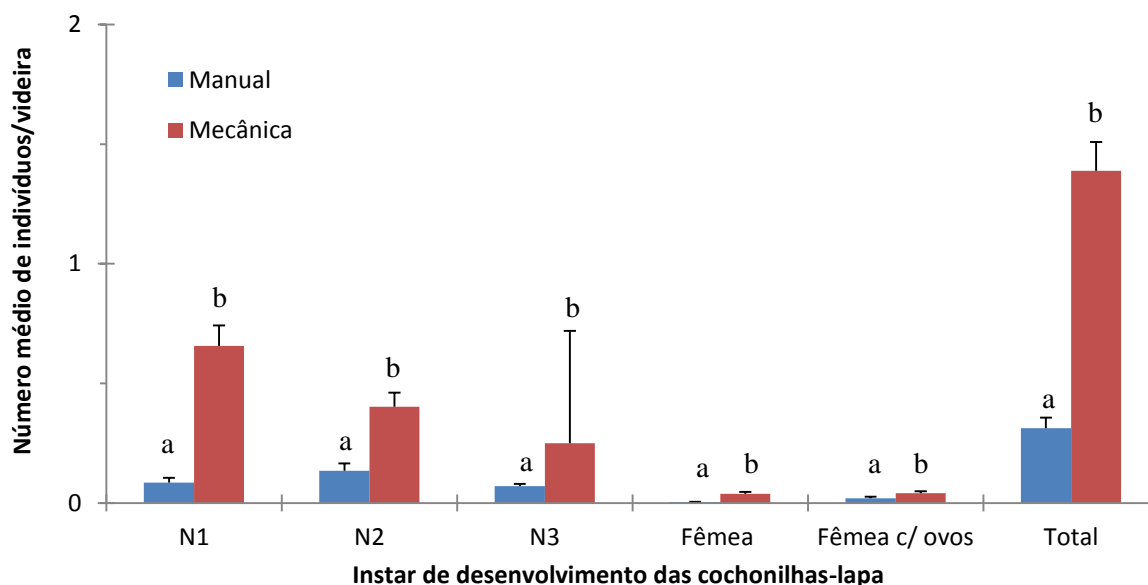


Figura 11. Número médio (\pm desvio padrão) de indivíduos de *Parthenolecanium corni*, por estado de desenvolvimento (N1=ninfa de 1º instar, N2=ninfa de 2º instar e N3=ninfa de 3º instar) em cada modalidade de poda (manual e mecânica), na parcela de ensaio de poda da Quinta do Gradil (Cadaval). Colunas acompanhadas pela mesma letra não são significativamente diferentes (Teste Tukey HSD, $p > 0,05$).

Quando se analisaram os dados de campo em função do tempo (Fig. 12 e 13), foi possível observar, quer na modalidade de poda manual quer na modalidade de poda mecânica, que durante o período em que foram realizadas as observações em campo (de Abril a Novembro de 2012), a espécie *P. corni* completou uma geração.

O desenvolvimento dos instares ninfais decorreu de forma muito semelhante entre as duas modalidades de poda. No final do mês de Maio, os exemplares observados compreendiam os estados de desenvolvimento entre fêmea e fêmea em postura, correspondendo ao início da primeira geração. No início de Junho, em ambas as modalidades, os indivíduos observados encontravam-se como ninfas de primeiro instar. Em Julho, as ninfas de primeiro e segundo instares representavam os estados de desenvolvimento predominantes nas videiras, embora se tenham observado algumas ninfas de terceiro instar. Esta última fase de desenvolvimento representa a fase em que a maioria dos indivíduos se encontrava quando foi realizada a observação no mês de Agosto, sendo que os restantes indivíduos se encontravam como ninfas de segundo instar, em ambas as parcelas. Na observação realizada no mês de Novembro, não foram encontrados exemplares em nenhuma das modalidades relativas ao ensaio de poda, nos locais de amostragem.

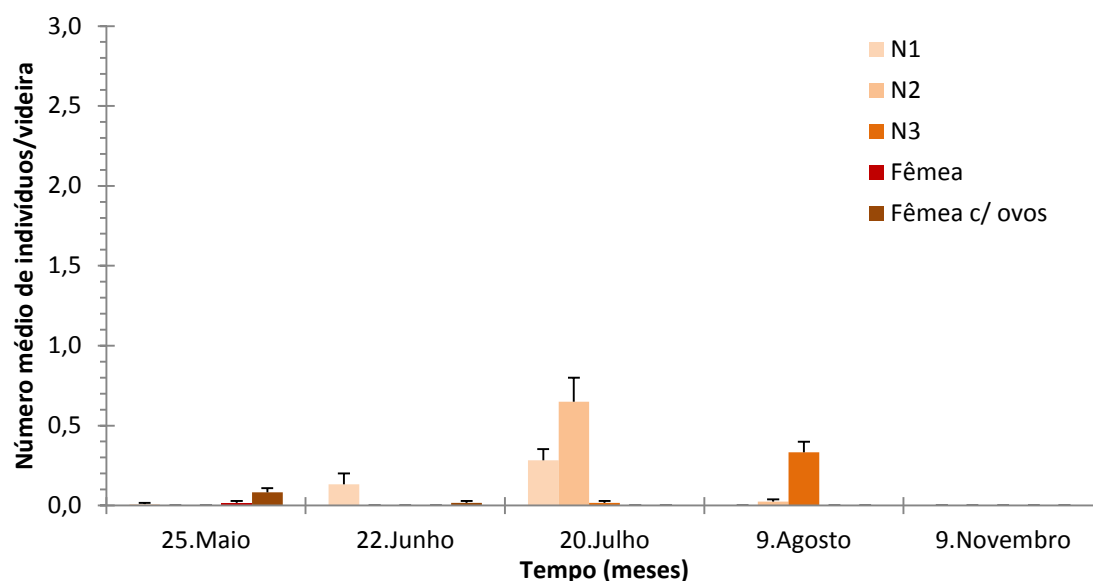


Figura 12. Distribuição do número médio de indivíduos (\pm desvio padrão) de *Parthenolecanium corni*, por estado de desenvolvimento (N1=ninfa de 1º instar, N2=ninfa de 2º instar, N3=ninfa de 3º instar), ao longo do tempo, na modalidade de poda manual, na parcela de ensaio de poda da Quinta do Gradil (Cadaval) (4 sarmentos/videira e 30 videiras/modalidade).

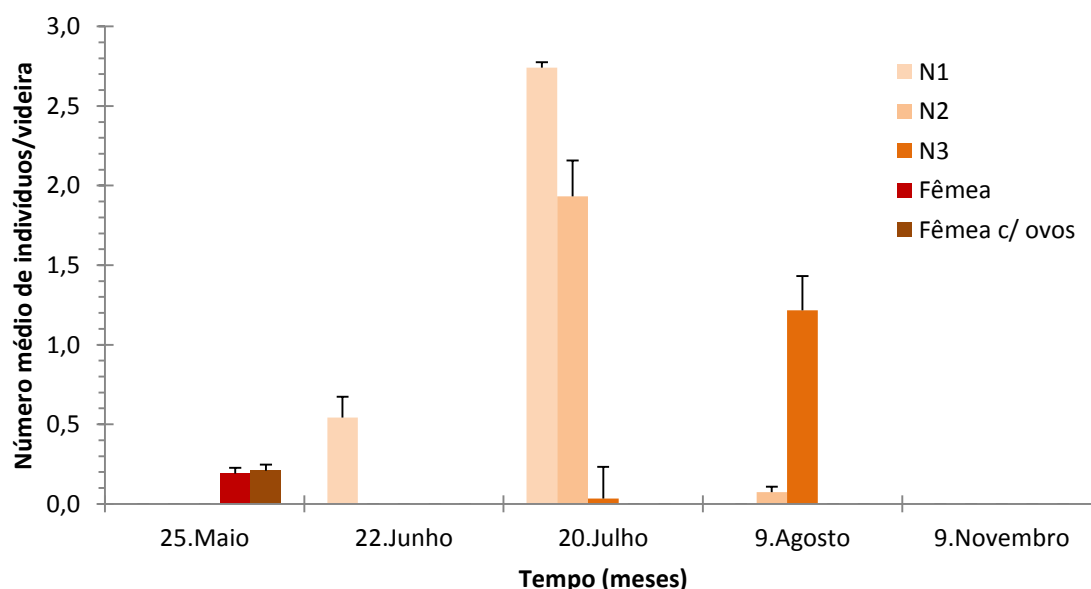


Figura 13. Distribuição do número médio de indivíduos (\pm desvio padrão) de *Parthenolecanium corni*, por estado de desenvolvimento (N1=ninfa de 1º instar, N2=ninfa de 2º instar, N3=ninfa de 3º instar), ao longo do tempo, na modalidade de poda mecânica, na parcela de ensaio de poda da Quinta do Gradil (Cadaval) (4 sarmentos/videira e 30 videiras/modalidade).

5.4.2. Ensaio poda vs fertilização

Relativamente às parcelas do ensaio FERTILPODA (com variação dos factores poda e fertilização), foram realizadas várias análises que permitiram melhor compreensão e interpretação de possíveis interações entre as modalidades de poda, de fertilização e a importância das cochonilhas-lapa.

A análise do efeito da poda, na Quinta do Côro (Sardoal) (Fig. 14), permitiu constatar que as modalidades de poda influenciam significativamente a intensidade de infestação de *P. corni*, expressa no número médio total de indivíduos ($F_{1;240} = 3,364$, $p < 0,068$). A análise específica para cada fase de desenvolvimento mostrou que as duas modalidades de poda evidenciam valores significativamente diferentes em indivíduos adultos ($F_{1;240} = 3,082$, $p < 0,08$) sendo os valores de poda mecânica são superiores aos valores de poda manual. As restantes fases de desenvolvimento não indicaram diferenças significativas entre as duas modalidades de poda, discriminadamente para ninfas de primeiro instar ($F_{1;240} = 1$, $p > 0,318$), de segundo instar ($F_{1;240} = 2,234$, $p > 0,136$) e de terceiro instar ($F_{1;240} = 1,525$, $p > 0,218$). A comparação de médias foi realizada separadamente pelos dois níveis de poda. Por outro lado, na Quinta do Gradil, as observações não revelaram valores de infestação de *P. corni* que permitissem a realização desta análise.

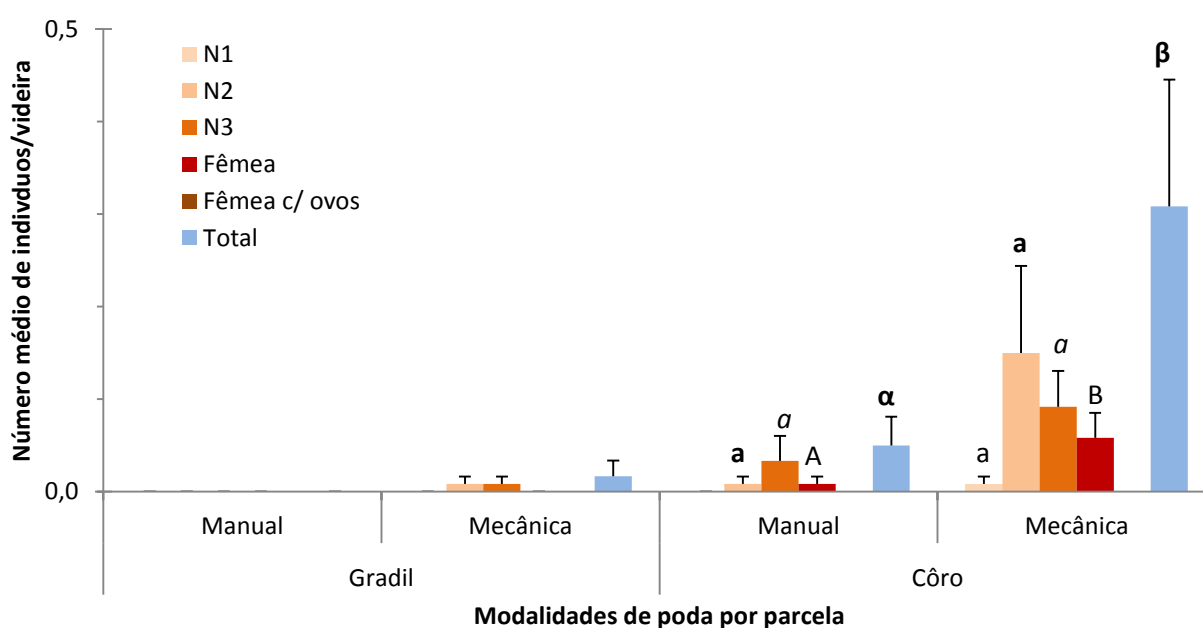


Figura 14. Distribuição do número médio de indivíduos (\pm desvio padrão) de *Parthenolecanium corni*, por estado de desenvolvimento (N1=ninfa de 1º instar, N2=ninfa de 2º instar, N3=ninfa de 3º instar), em cada modalidade de poda (manual e mecânica) (total de 30 videiras observadas, por parcela), na Quinta do Gradil (Cadaval) e na Quinta do Côro (Sardoal). Colunas acompanhadas pela mesma letra não são significativamente diferentes, separadamente, para cada um dos estados de desenvolvimento (Teste Tukey HSD, $p > 0,05$).

A mesma análise foi realizada para os efeitos das modalidades de fertilização, para as duas parcelas, Quinta do Gradil e Quinta do Côro (Fig. 15). No entanto a densidade populacional de *P. corni* na Quinta do Gradil apresentou valores muito baixos e não permitiu a realização desta análise. Para a Quinta do Côro os resultados obtidos não apresentaram diferenças significativas entre os diferentes estados de desenvolvimento ($F_{4;240} = 0,817, p > 0,515$), especificamente para ninfas de primeiro instar ($F_{4;240} = 1, p > 0,408$), ninfas de segundo instar ($F_{4;240} = 0,619, p > 0,649$), ninfas de terceiro instar ($F_{4;240} = 1,089, p > 0,363$) e fêmeas adultas ($F_{4;240} = 0,547, p > 0,701$). A comparação de médias foi realizada separadamente por parcelas.

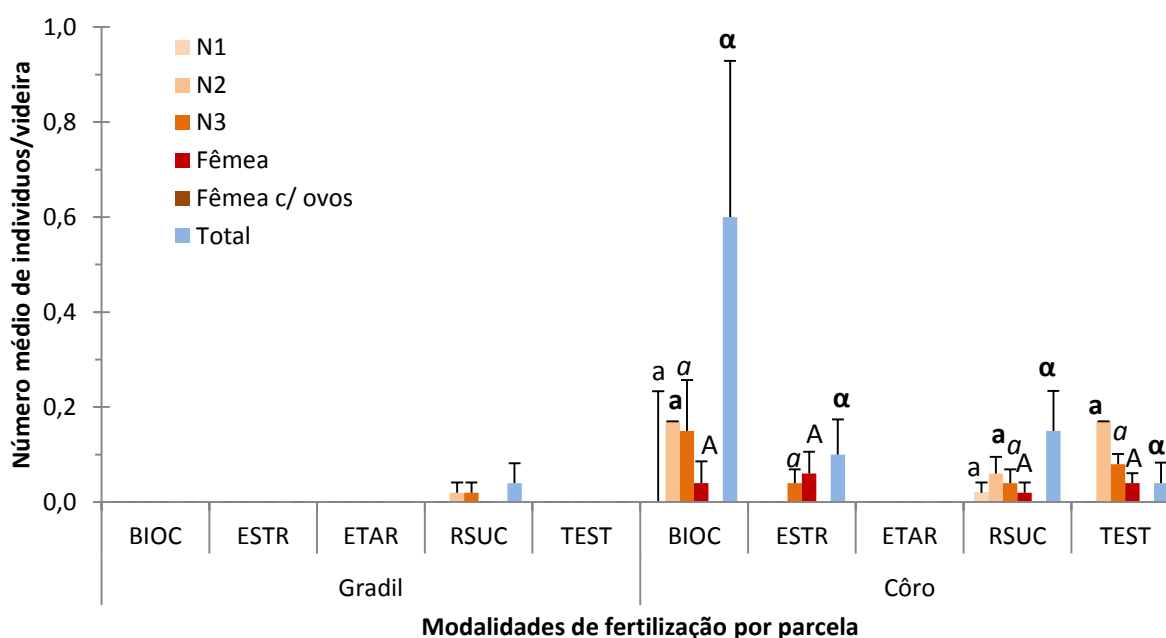


Figura 15. Distribuição do número médio de indivíduos (\pm desvio padrão) de *Parthenolecanium corni*, por estado de desenvolvimento (N1=ninfa de 1º instar, N2=ninfa de 2º instar, N3=ninfa de 3º instar), em cada nível de fertilização (ESTR – estrume de bovino, RSUC – resíduos sólidos urbanos compostados, ETAR – lamas de estação de tratamentos de águas residuais, BIOC – carvão vegetal, e TEST – testemunha, sem aplicação de fertilizantes) (total de 30 videiras observadas, por parcela), na Quinta do Gradil (Cadaval) e Quinta do Côro (Sardoal). Colunas acompanhadas pela mesma letra não são significativamente diferentes, separadamente, para cada um dos estados de desenvolvimento (Teste Tukey HSD, $p > 0,05$).

A análise de interação entre as modalidades de poda e de fertilização não apresentou diferenças significativas, nem na Quinta do Gradil ($F_{4;240} = 1, p > 0,41$), nem na Quinta do Côro ($F_{4;240} = 1,302, p > 0,27$), relativamente ao número de indivíduos por instar de desenvolvimento.

Relativamente a *P. ficus*, a expressão da presença desta espécie de cochonilhas foi bastante inferior à de cochonilhas-lapa, durante a totalidade do período experimental. As parcelas do ensaio exclusivo

de poda da Quinta do Gradil, apresentaram um total de apenas 43 presenças; 20 presenças na modalidade de poda manual e 23 na modalidade de poda-mecânica.

Nos ensaios FERTILPODA (poda e fertilização), na parcela da Quinta do Gradil não foi encontrado qualquer exemplar de cochonilhas-algodão durante as observações. Por outro lado, na Quinta do Côro foram contabilizados três indivíduos de *P. ficus*. Sendo que desses um corresponde à observação do dia 9 de Agosto, na modalidade de poda manual com fertilizante RSUC. Os outros dois exemplares de *P. ficus* encontravam-se na modalidade de poda mecânica em ESTR e TEST, ambas, também, observadas no dia 9 de Agosto.

6. DISCUSSÃO

A espécie de cochonilha-lapa identificada, *Parthenolecanium corni* (Bouché, 1844) (Hemiptera: Coccidae), já se encontrava referenciada em Portugal na cultura da vinha desde os anos 40 do século passado por Coutinho (1945), Almeida (1954), Guimarães (1973) e Vieira *et al.* (1983). A espécie de cochonilha-algodão, *Planococcus ficus* (Signoret, 1875) (Hemiptera: Pseudococcidae) identificada, também já se encontrava referenciada em vinha em Portugal por Franco *et al.* (2000).

Os parasitóides de cochonilha-lapa identificados, *Coccophagus lycimnia* (Walker, 1839) (Hymenoptera: Aphelinidae) e *Metaphycus dispar* (Mercet, 1925) (Hymenoptera: Encyrtidae), já se encontram referenciados em Portugal por Silva *et al.* (2006), para a cultura de citrinos. No entanto, até este trabalho desconheciam-se referências destas espécies associadas a coccídeos de vinha em Portugal.

A identificação de *C. lycimnia* para *P. corni* é referenciada por Santos (1985) e por Japoshvili *et al.* (2008), na Grécia e na Geórgia, respectivamente. Japoshvili *et al.* (2008) consideram *C. lycimnia* um dos parasitóides mais frequentes em *P. corni*. Hoffman & Schmutterer (1999) constituem a única referência conhecida de *C. lycimnia* e *M. dispar* no mesmo hospedeiro e em simultâneo mas associada a outra espécie do mesmo género, nomeadamente *Parthenolecanium persicae* (Fabricius, 1776) (Hemiptera: Coccidae).

A diversidade de parasitóides de cochonilha-algodão encontrada (*Leptomastidea abnormis* (Girault, 1915) (Hymenoptera: Encyrtidae) e *Anagyrus* sp. near *pseudococci* (Girault, 1915) (Hymenoptera: Encyrtidae) associada a *P. ficus* está de acordo com o referido por Silva *et al.* (2006) e Neto *et al.* (2008).

Relativamente às dimensões de comprimento e de largura, os valores obtidos neste estudo são variáveis, no entanto as fêmeas adultas apresentam valores semelhantes aos valores apresentados por Hodgson (1994). Em relação aos instares imaturos, não se encontrou bibliografia que permitisse comparar as dimensões de largura e de comprimento de *P. corni*. Contudo, estas dimensões obtidas para os instares imaturos, encontram-se na gama de valores apresentados por Brittin (1939) e Santos (1985) para uma espécie do mesmo género (*P. persicae*) (Quadro 4, Capítulo 5). Os valores das dimensões de largura e de comprimento obtidos encontram-se na gama das dimensões descritas por Brittin (1939), Santos (1985) e Hodgson (1994). No entanto, as diferenças entre as dimensões de comprimento entre os exemplares da Quinta do Gradil e da Quinta do Côro podem estar associadas às condições a que as cochonilhas-lapa foram submetidas durante o seu desenvolvimento. Como referiu Gill (1988), as dimensões das cochonilhas são características que dependem da gama de

temperatura a que estão sujeitas durante o seu desenvolvimento, da idade do insecto e da qualidade do alimento (hospedeiro vegetal).

Durante os ensaios, não foi possível saber a idade exacta de cada exemplar, na altura em que se determinaram as dimensões de largura e de comprimento. Apesar de se encontrarem na mesma fase de desenvolvimento, os exemplares podem ter idades diferentes (i. e., dias de diferença), facto que pode alterar as interpretações realizadas.

A distinção dos instares imaturos foi realizada com base nas observações da morfologia externa segundo os parâmetros de forma, tamanho, coloração e grau de esclerotização. A evolução (observada) destas características está de acordo com as descrições de “aparência geral” de fêmeas da família de Coccidae apresentada por Williams (1997).

Mais importante que as características morfológicas, como as dimensões, forma e coloração é o estudo da bioecologia da cochonilha-lapa, nomeadamente o seu ciclo de vida e o número de gerações que completa num ano. Os resultados de campo e de laboratório confirmam que *P. corni* desenvolve três instares imaturos, seguido de um outro estado correspondente à fêmea adulta, de acordo com o que é sugerido por Williams (1997), para membros da família Coccidae.

Botton et al (2002) refere que as espécies do género *Parthenolecanium* apresentam um período de postura entre 15 a 30 dias. Em campo, foi possível confirmar que este período teve uma duração de aproximadamente um mês, estando de acordo com os resultados deste autor. As ninfas de primeiro instar surgem, em campo, no início de Junho e em Julho, sugerindo um elevado desfasamento temporal. É nesta altura (Julho) que ocorre a muda para o segundo instar. Ninfas de terceiro instar foram observadas em Agosto. Na Grécia, Santos (1985) descreve um ciclo de vida muito semelhante para *P. corni*.

Nas condições observadas, não se registou a presença de machos, pois as ninfas apresentaram sempre morfologia semelhante e compatível com a forma apenas de fêmeas, sugerindo que a reprodução de *P. corni* seja por partenogénese, desconhecendo-se se do tipo facultativo ou obrigatório.

Relativamente à hibernação das cochonilhas-lapa *P. corni* e à fase de desenvolvimento correspondente, Santos (1985) sugere que esta espécie hiberna como ninfa de segundo instar. Pela descrição do ciclo de vida desta espécie por este autor, *P. corni* hiberna como ninfa de segundo instar, e no ano seguinte, na Primavera o desenvolvimento é rápido e apresentam-se como ninfas de terceiro instar e fêmeas adultas em Maio. No entanto, no presente estudo na última observação realizada em campo e em ambas as parcelas, em Novembro, não se encontraram indivíduos, e na

observação anterior (Agosto) encontraram-se maioritariamente ninfas de terceiro instar, sugerindo assim que *P. corni* hiberne como ninfa de terceiro instar na região centro de Portugal. No entanto, a última observação destas parcelas, foi realizada depois da vindima mecânica, esta operação pode ter sido responsável pela redução expressiva do nível de exemplares de cochonilhas-lapa presentes na vinha.

Relativamente ao número de gerações de *P. corni*, em campo (observações de Abril a Novembro) observou-se apenas uma geração, de acordo com os resultados de Santos (1985), no noroeste da Grécia.

Em laboratório, foi possível observar por completo a primeira geração, sendo que esta decorreu num menor período de tempo, em comparação com o observado em campo. Em Agosto, em laboratório, observaram-se fêmeas em postura e, mais tarde, os mesmos indivíduos, encontravam-se mortos e verificou-se a deslocação de “crawlers”. Na mesma altura, em campo, as ninfas encontravam-se no terceiro instar e não foram observados mais indivíduos de *P. corni*. No entanto em laboratório, em Setembro ainda se observaram ninfas de primeiro e segundo instar, o que indica que esta espécie poderia ter sido capaz de completar duas gerações, em laboratório, se não tivesse ocorrido a infestação de *P. ficus*, que tornou impossível a sobrevivência de ninfas de *P. corni*. A observação de indivíduos imaturos, após a observação de indivíduos adultos, sugere-nos que *P. corni* poderá ter o mesmo comportamento em regiões situadas mais a sul, como por exemplo no Algarve, completando mais que uma geração. Como já foi referido por Danzig (1997), para *P. corni*, esta espécie pode completar até três gerações por ano, dependendo da região geográfica onde se encontra. Esta dependência da temperatura, do fotoperíodo e a resposta à planta hospedeira têm vindo a ser observadas noutras espécies de insectos, embora estas diferenças sejam mais ligeiras. Danzig (1997) salienta que as diferenças no desenvolvimento sazonal de outras espécies, não foram observadas tão notórias e importantes como em *P. corni*. O conhecimento destes dados de bioecologia de *P. corni* é importante, na medida em que permite adequar as datas e o número de tratamentos fitossanitários a aplicar quando justificados, com maior eficácia.

Foram encontradas diferenças entre as modalidades de poda (manual e mecânica), tendo-se verificado um efeito da poda mecânica no acréscimo da importância da cochonilha-lapa, traduzida na percentagem de infestação. Estas diferenças de desenvolvimento fizeram-se notar tanto nas parcelas sujeitas às modalidades de poda desde há cinco anos (Quinta do Gradil, parcela de ensaio exclusivamente de poda), como nas parcelas com poucos meses de poda mecânica (Quinta do Gradil e Côro, ensaios com variação de níveis de poda e de fertilização). Estes resultados estão de acordo com os resultados de produção obtidos pela equipa do projecto FERTILPODA (Ribeiro *et al. com.*

pes.), que relativamente à carga à poda e ao número médio de cachos, mostraram que a poda mecânica apresenta valores significativamente superiores à poda manual. A evidência da densidade populacional de *P. corni* superior, nas modalidades de poda mecânica, pode dever-se ao facto de não ter sido realizada correcção manual (no presente ano), tornando mais relevante a estrutura desordenada da videira e as condições geradas no microclima “ensobrado” do coberto vegetal, devido à densidade foliar excessiva e provocada pela poda mecânica (Zabadal *et al.*, 2002; Castro *et al.*, 2006). Nos primeiros anos a poda mecânica, também, origina maior vigor nas cepas (Camilo, 2009). Estas alterações das condições geradas no microclima do coberto vegetal são favoráveis ao desenvolvimento de insectos, uma vez que levam a maior acumulação de humidade relativa e de temperatura e a menor incidência de luz solar (directa). Nestas condições, verifica-se também maior área vegetal disponível para as cochonilhas-lapa se fixarem, sem a problemática de competição na escolha de um local adequado para alimentação. Estas condições são vantajosas ao desenvolvimento deste tipo de insectos (picadores sugadores) pois correspondem ao oposto do que Amaro (2003) sugere para a eliminação de potenciais inimigos das culturas (a penetração de luz e o arejamento), podendo estar na origem das diferenças de densidades populacionais de *P. corni* entre as modalidades de poda.

Quando se realizaram as observações em campo na parcela do ensaio exclusivamente de poda, na Quinta do Gradil, as diferenças de intensidade populacional de *P. corni* foram imediatamente perceptíveis, i. e., sem qualquer tipo de análise foi notório que a densidade de cochonilha-lapa era superior nas parcelas de poda mecânica.

Os resultados obtidos relativamente à análise da influência das diferentes modalidades de fertilização, no número médio de indivíduos por videira, não apresentam valores que evidenciem diferenças significativas. Os dados fornecidos pela equipa do projecto FERTILPODA (Ribeiro *et al. com. pes.*) para as mesmas parcelas, relativamente ao mesmo ano, também não mostram diferenças significativas relativamente à quantidade de azoto (g) por pecíolo (kg) nas diferentes modalidades de fertilização.

Como foi referido anteriormente, alguns estudos têm vindo a demonstrar que os nutrientes presentes na planta hospedeira, especialmente o azoto, podem afectar o comportamento de insectos picadores sugadores (entre outros, Hasken & Poehling, 1995; Bethke *et al.*, 1998; Bi *et al.*, 2001; Garrat *et al.*, 2011). Como já foi referido por Garrat *et al.* (2011), os fertilizantes podem provocar alterações nas características morfológicas das plantas hospedeiras. À semelhança do efeito da poda na densidade populacional, o excesso de incorporação deste factor de produção, pode criar um ambiente favorável ao desenvolvimento de insectos, mostrando, de outra forma, a influência dos

fertilizantes aplicados na infestação por pragas. Como nas observações não se obtiveram diferenças significativas na densidade populacional de *P. corni*, está de acordo com facto de não terem sido encontradas diferenças na quantidade de azoto nas modalidades de fertilização. Estes resultados não são surpreendentes uma vez que o período de observações coincide com o primeiro ano do ensaio (projecto FERTILPODA) e, naturalmente, as modalidades de fertilização ainda não exercem influência no desenvolvimento das videiras, pois não houve tempo para a incorporação total e eficaz dos nutrientes, até porque a pluviosidade durante o período deste trabalho foi reduzida, atrasando ainda mais a incorporação destes compostos.

7. CONCLUSÕES

Ao concluir este trabalho, realizado para melhor compreender aspectos biológicos tal como o ciclo de vida de *Parthenolecanium corni* em Portugal, assim como o seu comportamento em vinhas sujeitas a diferentes tipos de poda e de fertilização, apresentam-se os aspectos mais relevantes.

As espécies de cochonilhas associadas à cultura da vinha na região centro de Portugal, foram identificadas como *Parthenolecanium corni* e *Planococcus ficus*. Durante a pesquisa de parasitóides associados a estas espécies de cochonilhas em vinha, *Coccophagus lycimnia* (Walker, 1839) (Hymenoptera: Aphelinidae) e *Metaphycus dispar* (Mercet, 1925) (Hymenoptera: Encyrtidae) foram identificados como parasitóides associados à espécie *P. corni*, enquanto *Leptomastidea abnormis* (Girault, 1915) (Hymenoptera: Encyrtidae) e *Anagyrus* sp. near *pseudococci* (Girault, 1915) (Hymenoptera: Encyrtidae) foram identificados como parasitóides associados à espécie *P. ficus*.

Com base nas observações realizadas pode afirmar-se que *P. corni* completa uma geração por ano na região centro de Portugal. No entanto, como as observações de indivíduos de *P. corni* nas videiras envasadas, em laboratório, indicam que esta espécie possa completar duas gerações e, por isso, não se pode excluir a hipótese desta espécie poder completar duas gerações anuais em regiões mais quentes a sul (como por exemplo, o Algarve). O ciclo de vida desta espécie de cochonilha-lapa em Portugal é muito semelhante a outros já descritos anteriormente. Pode afirmar-se que no final da Primavera as fêmeas iniciam a sua postura e que no início do Verão surgem ninfas de primeiro instar. Em Julho ocorre a muda para segundo instar e em Agosto para terceiro instar.

Com base na observação da morfologia externa e na interpretação das principais características morfológicas, através do registo fotográfico durante o seu desenvolvimento, inferiu-se que *P. corni* desenvolve três instares imaturos antes de atingir a fase de adulto. Uma vez que não foram observados machos, depreende-se também que *P. corni* se reproduz por partenogénese.

Relativamente aos ensaios de poda, a principal conclusão é que a poda mecânica pode influenciar positiva e significativamente o acréscimo de *P. corni*, quando já presente em vinha. As diferenças de densidade populacional de *P. corni*, foram notáveis mesmo nos ensaios sujeitos ao efeito de poda há pouco tempo, por isso, conclui-se que a poda mecânica pode provocar alterações no microclima do coberto vegetal mais favoráveis ao desenvolvimento desta praga, do que a tradicional poda manual.

Comparativamente às modalidades de fertilização, estas não apresentaram diferenças significativas, no entanto não se pode concluir que estas modalidades não exerçam influência na densidade populacional de cochonilhas-lapa (*P. corni*) uma vez que se trata do primeiro ano do ensaio FERTILPODA. Por fim, pode concluir-se que a poda constitui uma técnica cultural que pode

influenciar mais rapidamente do que a fertilização, no nível da intensidade de infestação e, por isso, na importância das cochonilhas-lapa em vinha.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AFONSO, A, FARIA, JL, BOTTON, M. & NONDILLO A. 2006 Biologia da cochonilha-parda *Parthenolecanium persicae* (Fabricius, 1776) (Hemiptera: Coccidae) em videira *Vitis labrusca* L. var. Isabel (vitaceae). Arquivo do Instituto Biológico, São Paulo, 461-464.
- AFONSO, A, TEIXEIRA, I BOTTON, M FARIA, JL & LOECK, AE 2004. Controle da cochonilha-parda *Parthenolecanium persicae* (Fabricius, 1776) (Hemiptera: Coccidae) na cultura da videira 985-989 pp.
- ALMEIDA, ES 1954. *Doenças das plantas e seus tratamentos*. Coimbra Editora Limitada. pp 633
- AMARO, P (Ed.) 2003. *A Protecção Integrada*. ISA Press. 446 pp
- AMARO, P (Ed.), AGUIAR, A, MEXIA, A, COUTO, C, RAMADAS, I, GARRIDO, J, COSTA, J, RIBEIRO, J, FREITAS, J, TRIGUEIROS, J, INGLEZ, M, FERREIRA, M & RAPOSO, M 2004. *Manual técnico de protecção integrada da vinha na região norte*. ISA PRESS, Lisboa. 119-121 pp.
- BABAEV, T 1970. The peach scale and its natural enemies in Tadzhikistan (In Russian). – Mat III. *Respubl. Konf. Molod. Echenich Tadz*. Dushanbe: 208-209 (cit. in Stathas et al. 2003).
- BAILEY, SF, 1964. A study of the European fruit lecanium scale, *Lecanium corni*, on prune. *Journal of Economic Entomology*, **57**: 934-938 (cit. in Danzing, 1997).
- BELLI, G, FORTUSINI, A, CASATI, P, BELLI, L, BIANCO, P & PRARI, S 1994. Transmission of a grapevine leafroll associated closterovirus by the scale insect *Pulvinaria vitis* L. *Rivista di Patologia Vegetale* **4**: 105-108 (cit. in Sforza et al. 2003).
- BEN-DOV, Y 1993. *A systematic Catalogue of the Mealybugs of the world (Insecta: Homoptera: Coccoidea: Pseudococcidae and Putoide) with data on geographical distribution, host plants, biology and economic importance*. Intercept, Andover.
- BEN-DOV, Y & HODGSON, CJ 1997. Techniques. Colleting and Mounting. In: BEN-DOV, Y., & HODGSON, C. J. (Eds) *Soft Scale Insects Their Biology, Natural Enemies and Control*. Elsevier, Amsterdam 389-395 pp.
- BEN-DOV, Y & MILLER, D 2012a. ScaleNet, *Planococcus ficus*. 16 de Junho de 2012. (<http://www.sel.barc.usda.gov/catalogs/pesudoco/Planococcusficus.htm>).
- BEN-DOV, Y & MILLER, D 2012b. ScaleNet, *Parthenolecanium corni*. 16 de Junho de 2012. (<http://www.sel.barc.usda.gov/catalogs/coccidae/Parthenolecaniumcornicorni.htm>).
- BEN-DOV, Y & MILLER, D 2012c. ScaleNet. *Parthenolecanium persicae*. 16 de Junho de 2012. (<http://www.sel.barc.usda.gov/catalogs/coccidae/Parthenolecaniumpersicaepersicae.htm>).
- BERTIN, S, CAVALIERI, V, GRAZIANO, C & BOSCO, D 2010. Survey of mealybug (Hemiptera: Pseudococcidae) vectors of Ampelovirus and Vitivirus in vineyards of northwestern Italy. Springer Scienceand Business Media. *Phytoparasitica* **38**: 401-409.
- BETHKE, JA, REDAK, RA & SCHUCH, UK 1998. Melon aphid performance on chrysanthemum as mediated by cultivar, and differential levels of fertilization and irrigation. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **88**: 41-47.
- BI, JL BALLMER, GR, HEDRIX, DL, HENNEBERRY, TJ & TOSCANO, NC 2001. Effect in cotton nitrogen fertilization on *Bemisia argentifolii* populations and honeydew production. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **99**: 256-259.
- BOECHSENIUS, NS 1957. Subtribe mealybugs and scales (Coccoidea). Soft scale insects Coccidae. – Vol. IX. Fauna SSSR. *Zoologicheskii Institut Akademii Nauk SSSR*, **66**: 1-493.

- BORATYNSKI, K 1969. On some species of *Lecanium* (Homoptera, Coccidae) in the collection of the Naturhistorisches Museum in Vienna; with description and illustration of the immature stages of *Parthenolecanium persicae*. *Annalen Naturhistorischen Museums in Wien*. **74**: 63-76.
- BOTTON, M, TEIXEIRA, I & AFONSO, A 2002. Bioecologia e controle da cochonilha-parda *Parthenolecanium persicae* (Fabricius, 1776) (Homoptera: Coccidae) na cultura da videira. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.
- BRITTIN, G 1939. The life history of *Lecanium* (*Eulecanium*) *persicae* (Fabricius), and descriptions of the different instars. 413-421.
- CAMILO, JS 2009. Poda Mecânica vs Poda Manual na casta Touria Nacional na Região do Dão. Dissertação para obtenção de Grau de Mestre em Viticultura e Enologia. ISA, Lisboa, 62 pp.
- CANARD, M 1960. Recherches sur la morphologie et la biologie de la cochenille *Eulecanium corni* Bouché (Homoptères – Coccoideae). *Annales de l'École Nationale Supérieure Agronomique de Toulouse*, 6: 185-271 (*cit. in* Rainato & Pellizari, 2009).
- CARLOS, C, CARVALHO, J, ALVES, F, FREITAS, J, CORTEZ, I, ARNALDO, P, PEREIRA, A, LEITE, S, FRANCO, J, TORRES, L 2008. As cochonilhas da vinha na Região Demarcada do Douro. Produção e Protecção Integrada. Actas do I Congresso Nacional de Produção Integrada. VIII Encontro Nacional de Protecção Integrada. Escola Superior Agrária de Ponte de Lima/IPVC 164-165 pp (Resumo).
- CARVALHO, JP 1986 *Introdução à entomologia agrícola*. Fundação Calouste Gulbenkian 357 pp.
- CASTRO, R, CRUZ, A & BOTELHO, M 2006. *Tecnologia Vitícola*. Edição DRABL 69 – 89 pp.
- CHAMPAGNOL, F 1984. Elements de physiologie de la vigne et de viticulture general. Montpellier, 354 pp.
- CHARLES, JG 1982. Economic damage and preliminary economic thresholds for mealybugs (*Pseudococcus longispinus* T.T.) in Auckland vineyards. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 25(3), 415-420.
- COLLINGWOOD, C, & PRINCE, A 1998. A guide to ants of continental Portugal (Hymenoptera: Formicidae). Sociedade Portuguesa de Entomologia, Lisboa 49 pp
- COUTINHO, PMC 1945. *Doenças e Pragas da Videira*. A Terra e o Homem. Sá da Costa Editora, Lisboa, 191 pp.
- COX, JM 1989. The mealybug genus *Planococcus* (Homoptera: Pseudococcidae). *Bulletin British Museum Natural History (Entomology)* **58**: 1-78 (*cit. in* Godinho, 2001).
- COX, JM & WETTON, MN 1988. Identification of the mealybug *Planococcus halli* Ezzat & McConnel (Homoptera: Pseudococcidae) commonly occurring on yams (*Discorea* spp.) in Africa and the West Indies. *Bulletin of Entomological Research* **78**: 561-571.
- DAANE, KM, COOPER, ML, TRIAPITSYN, SV, WALTON, VM, YOKOTA, YG, HAVILAND, DR, BENTLEY, JW, GODFREY, KE & WUNDERLICH, LR 2008. Vineyard managers and researchers seek sustainable solutions for mealybugs, a changing pest complex. *California Agriculture*, **62**: 4.
- DAANE, KM, MALAKAR-KUENEN, R, GUILLÉN, M, BENTLEY, WJ, BIANCHI, M & GONZÁLEZ, D 2011. Abiotic and biotic pest refuges hamper biological control of mealybugs in California vineyards. 1^o International Symposium on Biological Control of Arthropods pp 389-398.
- DANZIG, EM 1997. Intraspecific variations of taxonomic characters In: BEN-DOV, Y & HODGSON, CJ (Eds) *Soft Scale Insects Their Biology, Natural Enemies and Control*. Amsterdam: Elsevier pp 203-210.
- DAS, GM 1959. Parasites of the black scale, *Saisseta oleae*, in Africa. *Hilgardia*, 13:387-425 (*cit. in* Ben-Dov 1997).

- DEGEN, AA & GERSANI, M 1989. Environmental effects on activity and honeydew collection by the weaver ant *Polyrhachis simplex* (Hymenoptera: Formicidae) when attending the mealybug *Trabutina* sp. (Homoptera: Pseudococcidae). *Journal of Zoology*, London, 218:421-432 (cit. in Franco 1997).
- DUSO, C 1989. Indagini bioecologiche su *Planococcus ficus* (Sign.) nel Veneto. *Bolletino del Laboratorio di Entomologia Agraria "Filippo Silvestri"*. Portici, **46**: 3-20 (cit. in Godinho 2001).
- DZIEDZICKA, A 1968. Studies on the morphology and biology of *Lecanium fletcheri* Ckll. (Homoptera: Coccoidea) and related species. *Zoologica polonica* **18**: 125-165. (cit. in Rainatto & Pelizzari 2009).
- EBELING, W 1938. Host-determined morphological variations in *Lecanium corni*. *Hilgardia* **11**: 613-631 (cit. in Stepaniuk & Lagowska, 2006).
- FAUNA EUROPAEA 2012. Fauna Europaea version 2.5. Janeiro de 2013, em <http://www.faunaeur.org>.
- FLANDRES, SE 1951. The role of the ant in the biological control of homopterous insects. *The Canadian Entomologist*, **83**:93-98 (cit. in Ben-Dov & Hodgson 1997).
- FRANCO, JC 1997. Contribuição para a protecção integrada em citrinos: caso das cochonilhas-algodão (Hemiptera, Pseudococcidae). Tese de Doutoramento Eng. Agron., ISA/UTL, Lisboa, 369 pp
- FRANCO, JC, SILVA, EB & CARVALHO, JP 2000. *Cochonilhas-algodão (Hemiptera, Pseudococcidae) associadas aos citrinos em Portugal*. ISA Press, Lisboa, 141 pp
- FUCHS, M, MARSELLA-HERRICK, P, LOEB, GM, MARTINSON, TE & HOCH, CH 2009. Diversity of Ampelovirus in Mealybug and Soft Scale Vectors in Grapevine Hosts from Leafroll-Affected Vineyards. *The American Phytopathological Society*. **99**(10): 1177-1184
- GARAU, R, PROTA, VA, BOSCIA, D, FIORI M & PROTA, U 1995. *Pseudococcus affinis* Mask, new vector of grapevine trichoviruses A and B. *Vitis* **34**: 67-68 (cit. in Sforza et al. 2003).
- GARRAT, MPD, WRIGHT, DJ & LEATHER, SR 2011. The effects of farming systems and fertilisers on pests and natural enemies: A synthesis of current research. *Agriculture, Ecosystems and Environment* **141**: 261-270.
- GILL, RJ 1988. The Scale Insects of California Part 1. The Soft Scale (Homoptera: Coccoidea: Coccidae). Technical Services in Agricultural Biosystematics and Plant Pathology, California Department of Food and Agriculture 132 pp (cit. in Hodgson 1994).
- GODINHO MA & FRANCO JC 2001. Survey on the pest status of mealybugs in Portuguese vineyards. In: Lozzia C (ed) Proc Meet Working Group "Integrated Control in Viticulture", Ponte de Lima, 3-7 Mar 2002. *IOBC wprs Bulletin* **24**(7):221-226
- GODINHO, MA 2001. A cochonilha-algodão da vinha: importância, identidade específica e biologia. Licenciatura em Eng^a Agronómica, ISA/UTL, Lisboa 86 pp.
- GUIMARÃES, JAM 1973. *Catálogo das pragas das culturas em Portugal continental. Volume I – Insecta: pequenas ordens e Coccoidea*. Direcção Geral dos Serviços Agrícolas. Comissão Reguladora dos produtos químicos e farmacêuticos. Lisboa, 297 pp.
- GULLAN, PJ 1997 Ecology, Relationships with ants. In: BEN-DOV, Y., & HODGSON, C. J. (Eds) *Soft Scale Insects Their Biology, Natural Enemies and Control*.: Elsevier, Amsterdam: 111-136.
- HABIB, A 1957. The morphology and biometry of the Eulecanium corni-group, and its relations to host-plants. *Bulletin de la Société Entomologique Egypte*, 41: 381-410 (cit. in Stepaniuk & Lagowska, 2006; cit. in Marotta, 1997).
- HAGEN, KS 1986. Ecosystem analysis: plant cultivars (HPR), entomophagous species and food supplements. In: Boethel, D.J. & Einkenbary, R.D. (eds) *Interactions of plant resistance and*

- parasitoids and predators of insects*. Ellis Horwood, Chichester, 151-197 pp (*cit. in* Franco et. al. 2000).
- HAMON, AB & WILLIAMS ML 1984. The soft scale insects of Florida (Homoptera: Coccoidea: Coccidae). *Arthropods of Florida and Neighbouring Land Areas*. Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Division of Plant Industry, 11, 194 pp (*cit. in* Danzig, 1997)
- HASKEN, KH & POEHLING, HM 1995. Effects of different intensities of fertilisers and pesticides on aphids and aphid predators in winter wheat. *Agriculture, Ecosystems and Environment* **52**: 45-50.
- HODGSON, CJ 1994. *The Scale Insect Family Coccidae: An Identification Manual to Genera*. Internacional Institute of Entomology. An Institute of Center for Agriculture and Biosciences International, Wallingford 639 pp
- HODGSON, CJ 1997. Systematics. Taxonomic charactes – Adult female. In: BEN-DOV, Y & HODGSON, CJ (Eds) *Soft Scale Insects Their Biology, Natural Enemies and Control*. Elsevier, Amsterdam: 111-136 pp.
- HOFFMAN, VCH & SCHMUTTERER, H 1999. Die Pfirsichschildlaus *Parthenolecanium persicae* (F.) in Südbadeneinfür Deutschland neuer Schädling der Weinrebe *Vitis vinifera* L. – *Journal Pest Science* **72**: 52-54.
- JAPSHVILI, G, GABROSHVILI, N & JAPSHVILI, B 2008. The parasitoid complex of *Parthenolecanium corni* Bouché in the city of Tbilisi and its surroundings and comparasion with some other European countries. *Bulletin of Entomology Research* **98**: 53-56
- KAWECKI, Z 1958. Studies on the genus *Lecanium* Burm. IV. Materials to a monograph of the brown scale, *Lecanium corni*, (Lecaniidae) *Annales Zoologici* **17**: 135-216. (*cit. in* Rainatto & Pellizzari 2009).
- KOSZTARAB, M & KOZAR, F 1988. *Scale insects of Central Europe*. Akademiai Kiado, Budapest, 456 pp.
- KOSZTARAB, M 1996. *Scale insects of Northeastern North America. Identification, biology, and distribution*. Virginia Museum of Natural History. Martinsburg, Virginia 593 pp.
- KOZÁR, F & BEN-DOV, Y 1997. Zoogeographical considerations and status of knowledge of the family In: BEN-DOV, Y & HODGSON, CJ (Eds) *Soft Scale Insects Their Biology, Natural Enemies and Control*. Elsevier, Amsterdam: 213-227 pp.
- LONGO, S, MAZZEO, G & RUSSO, A 1991. Note bioetologiche su *Planococcus ficus* (Homoptera: Coccoidea Pseudococcidae) in Sicilia. In Atti XVI Congresso Nazionale Italiano di Entomologia. Bari – Martina Franca (Ta), 23 – 28 Settembre, pp 705-710 (*cit. in* Godinho 2001).
- LOPES, C, LAUREANO, M, FONSECA, B, ALEIXO, AL & CASTRO, R 1995. Influência da poda mecânica na produtividade da videira, casta 'Cabernet Sauvignon'. Lisboa: VIII Jornada GiESCO pp 354 – 361.
- MARCHAL, P 1908. Notes sur les cochenilles de l'Europe et du Nord de l'Afrique. *Annales de la Société Entomologique de France* **77**: 221-309 (*cit. in* Ben-Dov & Hodgson 1997).
- MAROTTA, S 1997 Biology - General life history. In: BEN-DOV, Y & HODGSON, CJ (Eds) *Soft scale insects – Their biology, natural enemies and control*. Elsevier, Amsterdam: 251-255 pp.
- MARTELLI, GP & BOUDON-PADIEN, E 2006. Directory of infectious diseases of grapevines. *Internacional Centre for Advanced Mediterranean Agronomic Studies*. **55**:59-75 (*cit. in* Fuchs et al. 2009).
- MARTINS AJA 2009. As cochonilhas-algodão da vinha (Hemiptera: Pseudococcidae) na região do Oeste. Mestrado em Engª Agronómica, ISA/UTL, Lisboa: 66 pp

- MORRIS, J & CAWTHON, DL 1981. Yield and quality response of Concord grapes (*Vitis labrusca* L.) to mechanized vine pruning. *American Journal of Enology and Viticulture*. **32**(4): 280-282. (cit. in Camilo, 2009).
- NETO, E, ARSÉNIO, AMF, MONTEIRO, CL, GODINHO, MA & FRANCO, JC 2008. A cochonilha da vinha (Hemiptera: Pseudococcidae) no Algarve: Dados sobre a sua biologia. *Boletim do Museu Municipal do Funchal*, Sup. **14**: 83-90.
- ÖSTMAN, Ö, EKBOM, B & BENGTSSON, J 2001. Landscape heterogeneity and farming practice influence biological control. *Basic and Applied Ecology* **2**: 365-371.
- PANIS, A & TREVILLOT, R 1975. Lutte contre le cochenille farineuse dans le vignoble méditerranéen. *Progrès Agricole et Viticole* **92**: 470-473 (cit. in Godinho 2001).
- PARIS, IC & ESPADALER, X 2009. Honeydew collection by the invasive garden ant *Lasius neglectus* versus the native ant *L. grandis*. *Arthropod-Plant Interactions* **3**: 75-85.
- RAINATTO, A & PELLIZZARI, G 2009. Observations on the biology of *Parthenolecanium rufulum* in northeastern Italy, with redescription of the first and second instar females. *Bulletin of Insectology* **62**: 85-91
- ROMOSER, WS & STOFFOLANO, JGJR 1998. *The science of entomology*. 4th Ed. WCB/McGraw-Hill, Boston. 605 pp.
- ROSCIGLONE B & CASTELLANO M 1985. Further evidence that mealybugs can transmit grapevine virus A (GVA) to herbaceous hosts. *Phytopathologia Mediterranea* **24**: 186-188 (cit. in Sforza et al. 2003).
- SANTAS, LA 1985. *Parthenolecanium corni* (Bouché) an Orchard scale pest producing honeydew foraged by bees in Greece. *Entomologia Hellenica* **3**: 53-58
- SĂVESCU, A.D 1944. Formes écologique des lécánides de la faune Roumaine. *Bulletin de la Section Scientifique de l'Académie Roumaine*, **27**(4): 230-246 (cit. in Danzig, 1997)
- SAYED, MT, SOLIMAN, AA & SALAMA, HS 1962. Further contributions to the biology of *Planococcus vitis* Nied and *Planococcus citri* Risso. *Bulletin de la Société Entomologique Egypte*, **46**: 449-457 (cit. in Godinho 2001).
- SFORZA, R, BOUDON-PADIEN, E & GREIF, C 2003. New mealybug species vectoring Grapevine leafroll-associated viruses-1 and -3 (GLVaV-1 and 3). *European Journal of Plant Pathology* **109**: 975-981.
- SILVA EB, SILVA, R, CECÍLIO, A & FRANCO, JC 2006. Principais grupos de artrópodes auxiliares referenciados em citrinos em Portugal: parasitóides. In: JC FRANCO, AP RAMOS & I MOREIRA (eds) *Infra-estruturas ecológicas e protecção biológica*. ISA Press, Lisboa 169-172.
- SILVA, EB 2000. Cálculo de prejuízos provocados por *Planococcus citri* (Risso) em citrinos. Doutoramento em Engenharia Agronómica, ISA/UTL, Lisboa 255 pp.
- STATHAS, GJ, ELIOPOULOS, PA, BOURAS, PL, ECONOMOU, LP & KONTODIMAS, DC 2003. The scale *Parthenolecanium persicae* (Fabricius) on grapes in Greece. Integrated Protection and Production in Viticulture. Greece *IOBC/wprs Bulletin* **26**(8): 253-257.
- STEPANIUK, K & LAGOWSKA, B 2006. Number and arrangement variation of submarginal tubercles in adult females *Parthenolecanium corni* group (Hemiptera, Coccidae) and its value as a taxonomic character. *Polish Journal of Entomology* **75**: 293-301.
- TANNE, E, BEN-DOV, Y & RACCAH, B 1989. Transmission of closterolike particles associated with grapevine leafroll by mealybugs (Pseudococcidae) in Israel. *Phytoparasitica* **17**:64.
- VIEIRA, R 1951. Os insectos nocivos à videira no Arquipélago da Madeira. *Anais Jta. Nac. Vinho*. **3**: 115-141 (cit. in Vieira et al., 1983).

- VIEIRA, RMS, CARMONA, M & PITA, MS 1983. Sobre os coccídeos da Arquipélago da Madeira (Homoptera – Coccoidea). Boletim do Museu Municipal do Funchal, XXXV, **153**: 81-162.
- VRANJIC, JA 1997. Ecology. Effects on host plant. In: BEN-DOV, Y & HODGSON, C. J. (Eds) *Soft Scale Insects Their Biology, Natural Enemies and Control*. Elsevier, Amsterdam: 323-334 pp.
- WILLIAMS DJ & WATSON W 1990. The scale insects of the Tropical South Pacific Region - Part 2 - The Mealybugs (Pseudococcidae). CAB International Institute of Entomology
- WILLIAMS, ML & KOSZTARAB, M 1972. Morphology and Systematics of the Coccidae of Virginia with Notes on their biology (Homoptera: Coccidae). *Virginia Polytechnic Institute and State University, Research Division Bulletin*, **74**: 1-215 (*cit. in* Danzig, 1997).
- WILLIAMS, ML 1997. *Morphology*. The immature stages. In: BEN-DOV, Y & HODGSON, C. J. (Eds) *Soft Scale Insects Their Biology, Natural Enemies and Control*. Elsevier, Amsterdam: 5-20 pp.
- WINKLER, AJ, COOK, JA, KLIEWER, WM & LIDER, LA 1994. *General Viticulture*. Univ. California Press, Los Angeles (*cit. in* Camilo, 2009).
- YASNOSH, V, RTSKHILADZE, E & TABATADZE, E 2001. Coccids (Hemiptera, Coccinea) and their natural enemies in the vineyards of Georgia: present situation. *Bolletino di Zoologia e di Bachicoltura*, **33**: 351-355.
- ZABADAL, TJ, VANEE, GR, DITTMER, GW & LEDEBUHR RL (2002). Evaluation of strategies for pruning and crop control of Concord grapevines in Southwest Michigan. *American Journal of Enology and Viticulture* **53**: 204-209 (*cit. in* Camilo, 2009).

ANEXOS

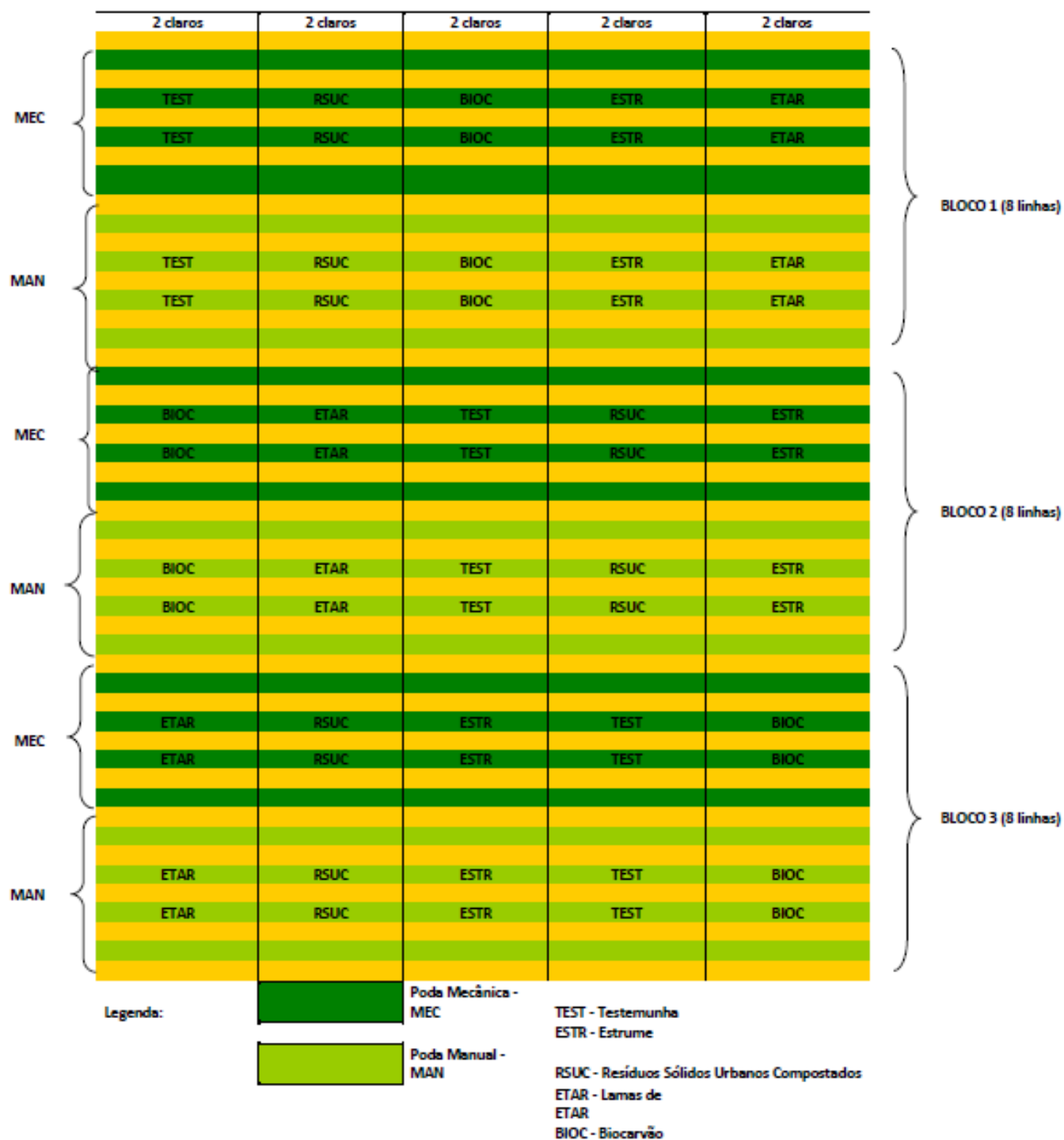
Anexo I - Protocolo de preparação de coccídeos para observação microscópica, adaptado de Ben-Dov & Hodgson (1997).

1. Fixação Inicial: Conservar o material em solução de ácido acético e álcool.
2. Fazer uma incisão (com ajuda de uma agulha fina) na região médio-lateral do abdómen.
3. Maceração: Transferir os indivíduos para uma solução de hidróxido de potássio (KOH) a 10% à temperatura ambiente durante um período de 12-24h.
4. Desidratação: Transferir para água destilada. Gentilmente pressionar os exemplares, de forma a retirar o conteúdo do corpo.
5. Repetir o passo anterior, de forma a garantir que a limpeza do interior é completa.
6. Gradualmente adicionar solução de ácido acético glacial até que esta atinja a concentração de (aproximadamente) 70%.
7. Transferir os exemplares para uma solução de 100% ácido acético glacial.
8. Coloração: Adicionar à solução de ácido acético glacial uma ou duas gotas de fucsina ácida, manter em solução 1-24h.
9. Lavagem: Transferir para uma nova solução de ácido acético glacial para remoção de resíduos que ainda se possam encontrar no interior dos indivíduos.
10. Limpeza (opcional): Se ainda se verificar a presença de materiais cerosos ou gordurosos, adicionar uma gota de carbol-xileno, manter em solução 15 a 30 minutos.
11. Fixação-final: transferir para óleo de cravo (eugenol) durante 24h. No entanto, as 24h não são essenciais, desde que se garanta a desidratação total dos exemplares, caso contrário poderá turvar o balsamo do Canadá.
12. Montagem: colocar uma gota de bálsamo do Canadá e o exemplar em cima da mesma, com a zona ventral virada para cima. Cobrir a preparação com uma lamela e identificar a lâmina.

Anexo II - Protocolo de preparação de pseudococídeos para observação microscópica, adaptado de Williams & Watson (1990).

- 1.** Conservar os indivíduos em solução de conservação de Pseudococídeos (etanol acético)
- 2.** Perfuração do tórax. Efectuar um ou dois pequenos orifícios na região dorsal do mesotórax, com ajuda de uma agulha fina (assinalado ao lado)
- 3.** Fervura em hidróxido de potássio (KOH 10%), durante 10 minutos. Pressionar gentilmente os exemplares (apenas na região dorsal ou ventral) de maneira a remover o seu interior; os indivíduos deverão apresentar-se transparentes após o esvaziamento do seu conteúdo
- 4.** Lavagem em água destilada morna (2 vezes). Visualizar à lupa; pressionar gentilmente de maneira a limpar ainda algum conteúdo, expelindo-o através dos orifícios; a lavagem serve também para remover resíduos da solução de hidróxido de potássio
- 5.** Lavagem em álcool 96%. Remoção de algumas gotas cerosas que permaneçam ainda no interior
- 6.** Lavagem em carbol-xileno, durante 10 minutos
Remoção de algumas gotas cerosas que permaneçam ainda no interior; o tempo vai depender do estado de limpeza
- 7.** Lavagem em álcool 96%. Remoção de resíduos de carbol-xileno
- 8.** Desidratação em álcool 50% + ácido acético (4:1), durante 10 minutos
- 9.** Coloração com fucsina ácida, durante 1 hora (ou menos)
- 10.** Desidratação em álcool 96%
- 11.** Desidratação em álcool absoluto
- 12.** Clarificação com eugenol (óleo de cravo), durante 20 minutos (ou mais). Visualizar à lupa; nesta fase poder-se-á eliminar algumas bolhas de ar que ainda existam e finalizar a limpeza
- 13.** Montagem em lâmina com bálsamo do Canadá. Colocar o exemplar em lâmina com a região ventral para cima, removendo os resíduos de eugenol num papel de filtro e, compondo os apêndices de maneira a ficarem direitos e sem sobreposições; colocar uma ou duas gotas de bálsamo do Canadá e deixar cair a lamela cuidadosamente com ajuda de uma agulha

Anexo III – Delineamento experimental das parcelas do ensaio FERTILPODA, parcela 5 da Quinta do Gradil (Cadaval) e Quinta do Côro (Sardoal).



Anexo IV – Delineamento experimental das parcelas do ensaio exclusivamente de poda, na Quinta do Gradil (Cadaval).

2 claros	2 claros	2 claros	2 claros	2 claros
		PODA MECÂNICA		
		PODA MECÂNICA		
		PODA MANUAL		
		PODA MANUAL		
		PODA MECÂNICA		
		PODA MECÂNICA		
		PODA MANUAL		
		PODA MANUAL		

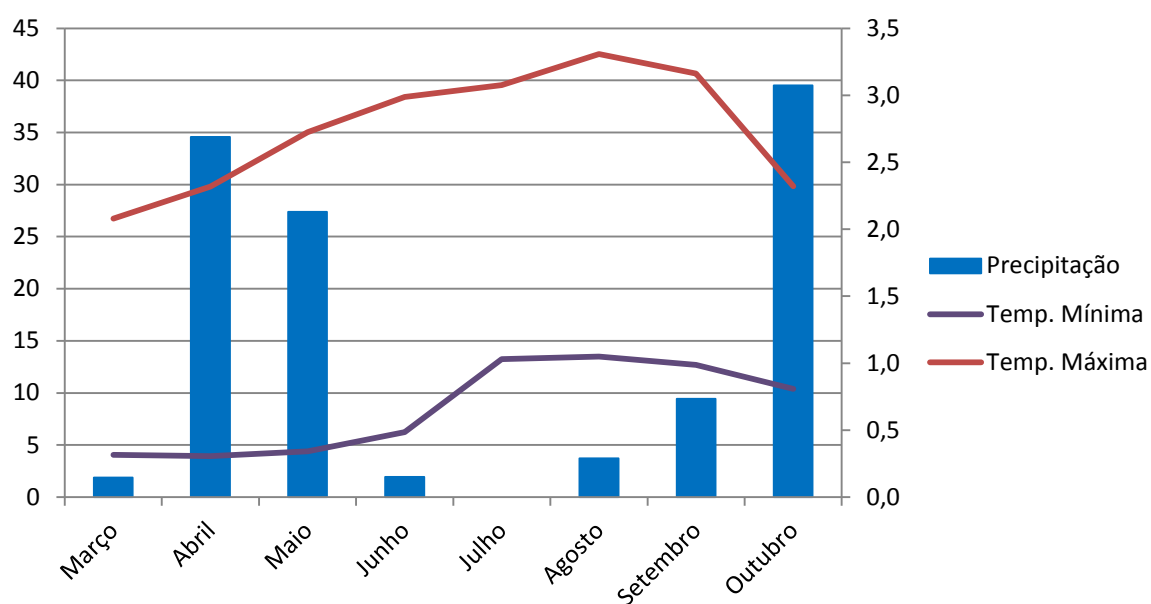
Anexo V – Tratamentos fitossanitários realizados nas parcelas das vinhas em estudo (Quinta do Gradil, Cadaval, Quinta do Côro, Sardoal).

Parcela	Data	Substância activa	Tratamento	Dose (mL/ha)
Gradil	04.07.2012	alfa-cipermetrina	Fastac	150
Côro	04.07.2012	flufenoxurão (segundo voo da traça)	Bingo	500
Gradil	02.08.2012	alfa-cipermetrina	Fastac	150
Gradil	28.08.2012	alfa-cipermetrina	Fastac	150

Anexo VI - Registos de valores médios de temperaturas, máxima e mínima, e precipitações, relativos aos meses de observação em campo (Março a Outubro, 2012) referentes à Quinta do Gradil.

Fonte: Quinta do Gradil, Estação meteorológica do Cadaval.

	Março	Abril	Maio	Junho	Julho	Agosto	Setembro	Outubro
Temperatura Mínima (° C)	4,06	3,93	4,39	6,23	13,26	13,50	12,70	10,39
Temperatura Máxima (° C)	26,74	29,80	35,03	38,40	39,55	42,53	40,67	29,84
Precipitação (mm)	0,15	2,69	2,13	0,15	0,00	0,29	0,73	3,07



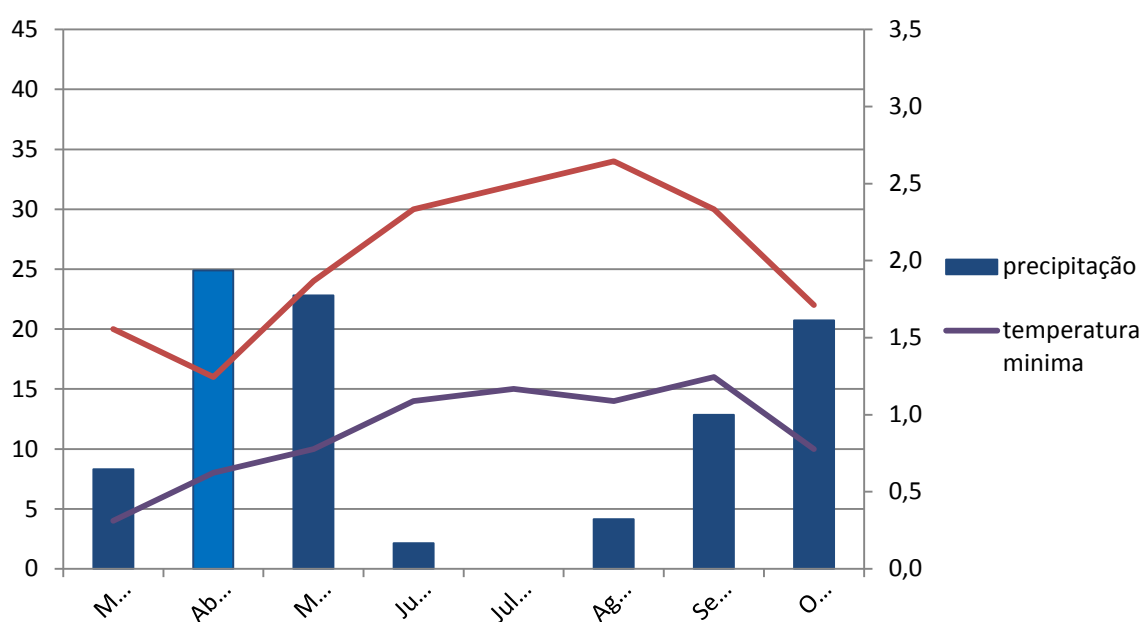
Evolução das temperaturas mínimas e máximas (médias) e precipitação média durante os meses de observação em campo (Março a Outubro), na Quinta do Gradil.

Fonte: Quinta do Gradil, Estação meteorológica do Cadaval.

Anexo VII - Registos de valores médios de temperaturas, máxima e mínima, e precipitações, relativos aos meses de observação em campo (Março a Outubro, 2012) referentes à Quinta do Côro.

Fonte: Instituto Português de Meteorologia, IP Portugal. As médias de temperatura e de pluviosidade foram calculadas com base nos mapas de clima por datas.

	Março	Abril	Maio	Junho	Julho	Agosto	Setembro	Outubro
Temperatura Mínima (° C)	4	8	10	14	15	14	16	10
Temperatura Máxima (° C)	20	16	24	30	32	34	30	22
Precipitação (mm)	0,65	1,94	1,77	0,17	0,00	0,32	1,00	1,61



Evolução das temperaturas mínimas e máximas (médias) e precipitação média durante os meses de observação em campo (Março a Outubro), na Quinta do Côro.

Fonte: Instituto Português de Meteorologia, IP Portugal.

Anexo VIII - Folha de registo de intensidade de infestação de cochonilha-lapa sujeita a modalidade de poda em vinha (2012).

Cepa	Sarmento	N.º ninfas		Observações
1	1			
	2			
	3			
	4			
2	1			
	2			
	3			
	4			
3	1			
	2			
	3			
	4			
4	1			
	2			
	3			
	4			
5	1			
	2			
	3			
	4			
6	1			
	2			
	3			
	4			
7	1			
	2			
	3			
	4			
8	1			
	2			
	3			
	4			